UNIVERSITE PARIS-VII

FACULTE DE MEDECINE PARIS — LARIBOISIERE SAINT-LOUIS

88

ANNÉE 1972

# THÈSE

N°

POUR

# LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**Dominique, Jean CHIARASINI**

né le 22 février 1943 à Dakar (Sénégal)

*Présentée et soutenue publiquement le* 197

# Structure morphologique du tractus génital de la ratte Mise en évidence de variations cycliques des lipides vaginaux par la cytologie exfoliatrice

Président : M. E. FOURNIER, Professeur

**PARIS — 1972**

UNIVERSITE PARIS-VII

**FACULTE DE MEDECINE PARIS — LARIBOISIERE SAINT-LOUIS**

ANNÉE 1972 **THÈSE** N°

POUR

# LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**Dominique, Jean CHIARASINI**

né le 22 février 1943 à Dakar (Sénégal)

*Présentée et soutenue publiquement le* 14 *juin* 1972

# Structure morphologique du tractus génital de la ratte Mise en évidence de variations cycliques des lipides vaginaux par la cytologie exfoliatrice

Président : M. E. FOURNIER, Professeur

**PARIS — 1972**

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A notre Président de thèse

Monsieur le Professeur E. FOURNIER

Doyen de la Faculté de Médecine LariboisièreSaint Louis

A qui nous exprimons notre respectueuse reconnaissance pour avoir bien voulu nous faire l'honneur de présider notre Jury de thèse.

A notre Maître

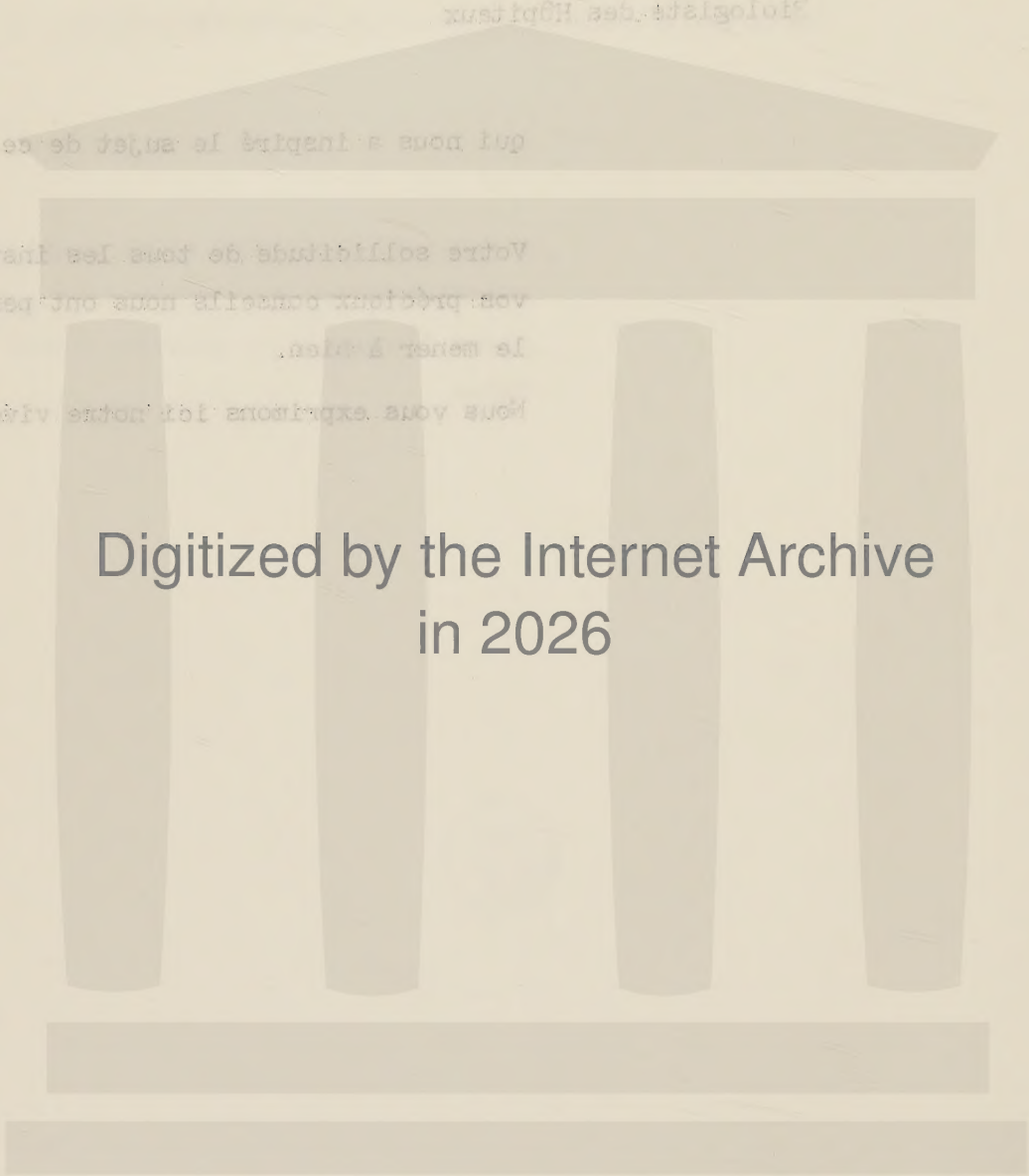
Monsieur le Professeur Agrégé M. MAILLET

Biologiste des Hôpitaux

qui nous a inspiré le sujet de ce travail.

Votre sollicitude de tous les instants,
vos précieux conseils nous ont permis de
le mener à bien.

Nous vous exprimons ici notre vive gratitude.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550017_0023

A Monsieur le Docteur Cl. BOUTON

Chargé de Cours d'Histologie-Embryologie
à la Faculté de Médecine Lariboisière-Saint Louis

A qui nous adressons nos remerciements très sincères pour l'aide qu'il nous a souvent apportée.

A Monsieur le Docteur A. DELAVILLE

Chef de Travaux d'Histologie-Embryologie
à la Faculté de Médecine Lariboisière-Saint Louis

Que nous remercions aussi très sincèrement pour ses amicaux conseils.

A Monsieur le Docteur Ph. GENET

Chef de Travaux d'Histologie-Embryologie
à la Faculté de Médecine Broussais-Hôtel Dieu

A qui nous adressons nos vifs remerciements.

# P L A N


- PREMIERE PARTIE

STRUCTURE MORPHOLOGIQUE DU TRACTUS GENITAL DE LA RATTE

I - Le cycle oestral

II - Anatomie macroscopique et microscopique du tractus génital

A. Ovaire

B. Trompe

C Utérus

D. Vagin

- DEUXIEME PARTIE

MISE EN EVIDENCE DE VARIATIONS CYCLIQUES DES LIPIDES VAGINAUX PAR LA CYTOLOGIE EXFOLIATRICE

I - Matériel et méthodes

II - Techniques

III - Résultats

IV - Conclusion

BIBLIOGRAPHIE

# PREMIERE PARTIE :

## STRUCTURE MORPHOLOGIQUE DU TRACTUS GENITAL DE LA RATTE

## I - Le cycle oestral de la ratte

# LE CYCLE OESTRAL DE LA RATTE

En 1892 de RETTERER chez le cobaye et LATASTE chez la ratte, mettent en évidence des variations cycliques de la morphologie de l'épithelium vaginal. Chez les rongeurs de la famille des Muridés.

"L'épithélium du vagin dans les intervalles du repos génital, c'est-à-dire le plus fréquemment, se montre cylindrique muqueux, alors qu'aux époques du rût on le trouve pavimenteux, stratifié et même corné" (F. LATASTE 1892).

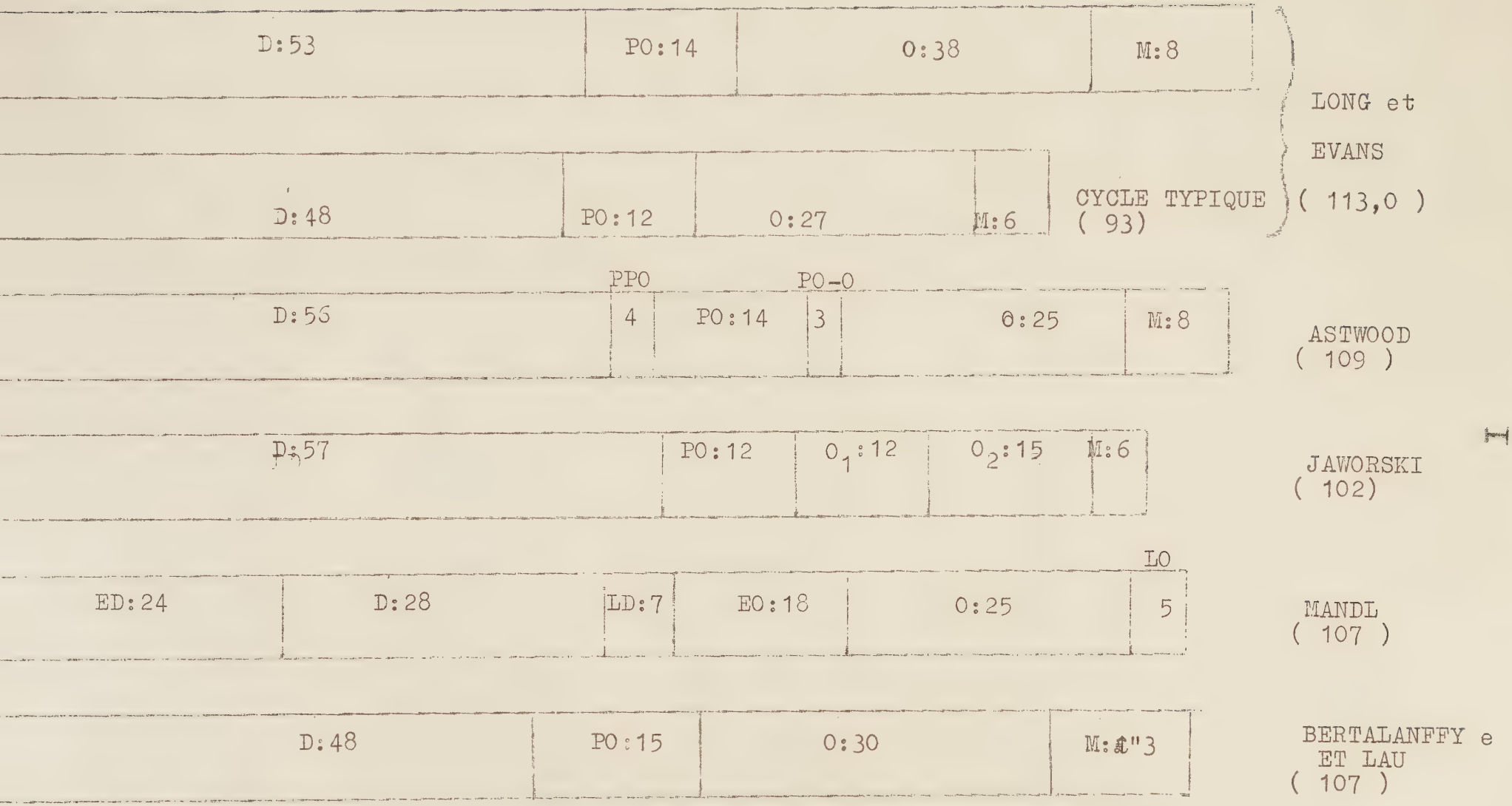
En 1900 HEAPE décrit le phénomène de l'oestrus. En 1917, STOCKARD et PAPANICOLAOU déterminent la durée du cycle oestral chez le cobaye, grâce à l'examen microscopique des frottis vaginaux. W.M. ALLEN détermine en 1922 la durée du cycle chez la souris, ainsi que J.A. LONG et H.M. EVANS en 1922 et ISHII également en 1922, chez la ratte. E.B ASTWOOD en 1939, A.J. WATERMAN en 1948, Z. JAWORSKI en 1950, A.M. MANDL en 1951, et plus récemment F.D. BERTALANFFY et C. LAU en 1963, se sont livrés à des études plus précises, toujours chez la ratte.

A partir de la maturité sexuelle l'ovulation se produit de façon spontanée et cyclique, cette notion d'ovulation spontanée n'est d'ailleurs pas toujours la règle générale, car dans un nombre non négligeable de cas, l'ovulation peut être provoquée par l'accouplement

Le cycle oestral peut être défini comme l'ensemble des modifications cycliques du tractus génital.

## I - DUREE DU CYCLE OESTRAL

La durée moyenne du cycle oestral varie assez peu dans l'ensemble. Pour J.A. LONG et H.M. EVANS (1922) la durée d'uncycle typique est de 93 heures ; de 109 heures pour E.B. ASTWOOD (1939) ; de 102 heures pour Z. JAWORSKI (1950) ; de 107 heures pour A.M. MANDL (1951) ; enfin de 107 heures environ pour F. BERTALANFFY et C. LAU (1963).




Durée relative des phases du cycle oestral, exprimé en heures.
( ED:Dioestrus précoce; D:Dioestrus; LD:Dioestrus tardif; EO:Oestrus précoce; PPO:Préoestrus; PO:Proestrus; O:Oestrus; LO:Oestrus tardif; M:Metoestrus

Les variations constatées d'un auteur à l'autre peuvent être dues à des facteurs tels que la souche de ratte utilisée, Rattes Wistar, Sprague-Dawley entre autres, et surtout la susceptibilité individuelle des sujets de cette souche ; en effet, certains sujets d'une colonie peuvent présenter des épisodes d'oestrus prolongé ou même un oestrus permanent spontanément. La durée moyenne du cycle oestral est soit de quatre jours, soit de cinq jours ; certains animaux présentant souvent une alternance de cycles de 4 jours et de 5 jours.

## II - Phases du cycle oestral

Le cycle oestral est classiquement divisé en quatre phases :

- Proestrus
- Oestrus
- Metoestrus
- Dioestrus.

Ces quatre phases correspondent aux cinq stades classiques de Z. JAWORSKI (1950) ; le stade I correspondant au proestrus, les stades II et III à l'oestrus, le stade IV au metoestrus , le stade V au dioestrus, dioestrus qui peut être divisé en dioestrus I et dioestrus II (F.D. BERTALANFFY et C. LAU 1963). La durée moyenne de chaque phase a été déterminée par les auteurs cités ci-dessus.

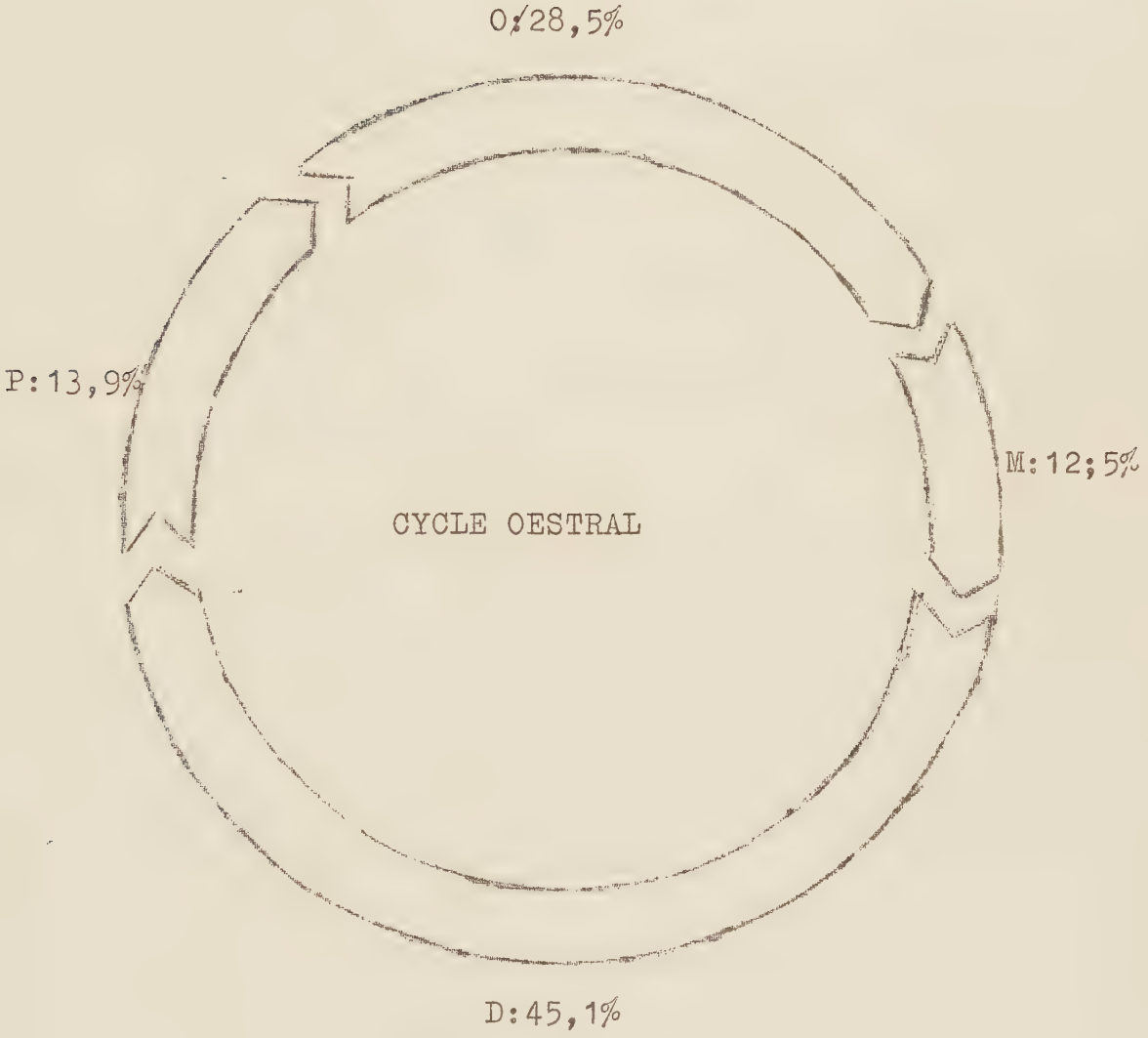
### 1°) Le proestrus

Sa durée est d'environ 12 heures (A.J. LONG et H.M. EVANS, 1922 et Z. JAWORSKI 1950). F.D BERTALANFFY et C. LAU (1963) trouvent une valeur sensiblement identique. C'est une période de préparation et de construction, au cours de laquelle se produit une modification de la muqueuse utérine dans le sens d'un accroissement et une croissance des follicules ovariens.

### 2°) L'oestrus

Il est divisé en deux stades, l'oestrus I et l'oestrus II. Lors du premier stade la maturation et la distension des follicules se poursuivent, l'animal est en rût ; lors du deuxième stade, l'ovulation

Les phases du cycle oestral:leur durée est établie en pourcentage;d'après BERTALANFFY.F. et LAU.C.1963.
(Légèrement modifié)




P:PROESTRUS (13,9%)
O:OESTRUS (28,5%)
M:METOESTRUS(12,5%)
D:DIOESTRUS (45,1%)

se produit et le rût cesse. L'oestrus dure de 27 à 30 heures environ ; tous les auteurs ont des conclusions concordantes sur ce point. Le stade I a une durée d'environ 12 heures et le stade II une durée d'environ 15 heures.

3°) La Métoestrus

Sa durée est d'environ 6 heures (A.J. LONG et H.M. EVANS, Z. JAWORSKI, AM. MANDL) à 8 heures (E.B. ASTWOOD). Seuls F. BERTALANFFY et C. LAU trouvent la valeur notablement supérieure de 13 heures, soit près du double. Cette phase peut être appelée période lutéale, avec formation de corps jaunes à partir des follicules rompus.

4°) Le Dioestrus

Cette phase constitue la période de repos. Sa durée varie de 48 à 50 heures. Il existe cependant des variations relativement importantes selon les différents auteurs, ainsi la durée du dioestrus est de 53 heures pour A.J. LONG et H.M. EVANS, de 55 heures pour E.B. ASTWOOD, de 57 heures pour Z. JAWORSKI

Il semble donc que la durée de l'oestrus soit relativement constante ; la seule exception est la valeur de 38 heures trouvée par A.J. LONG et H.M. EVANS, dans leur estimation de la durée moyenne du cycle ; ceci est dû au fait qu'un certain nombre de sujets de leur colonie ont présenté des épisodes d'oestrus permanent, plus ou moins prolongés. Par contre les variations de durée relativement importantes du dioestrus semblent prouver que la durée moyenne du cycle tout entier dépend des variations de temps de ce dernier

## III - Facteurs influençant la durée du cycle oestral

1°) La température

M.E. DENISON et M.X. ZARROW en 1955 se sont attachés à montrer quelle était l'influence d'une exposition prolongée à basse température sur la durée totale du cycle et de chacune de ses phases. Des rattes matures sont placées en chambre froide à la température de 2° C pendant 90 jours.

| Conditions de température | Durée du cycle oestral en jours | Durée des phases en pourcentage par rapport au cycle oestral | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Dio | Pro | O | Meto |
| T. ambiante : 23° C | 4,3 jours | 25 | 24 | 27 | 24 |
| Exposition à 2° C | 5,7 jours | 4 | 42 | 37 | 17 |

"Tableau tiré de M.E DENISON et M.X. ZARROW - 1955"

Lors d'une exposition prolongée au froid, il existe une augmentation très nette de la durée totale du cycle. Au cours de chacune des phases, on observe une augmentation nette de la durée du proestrus et à un moindre degré de celle de l'oestrus ; par contre, il y a une diminution très nette de la durée du dioestrus et une diminution moins marquée de celle du metoestrus. Là, le facteur lumineux n'intervient pas car les animaux sont soumis à 12 heures d'éclairement et 12 heures d'obscurité quotidiens.

2°) La lumière et l'obscurité

De nombreux auteurs se sont attachés à étudier quelle pouvait être l'influence du facteur lumineux sur la durée du cycle oestral et sur le comportement sexuel de l'animal. Cl. ARON, M. LUXEMBOURGER, D. CHATEAU (1967) ; J.C. HOFFMAN (1967) ; J.C. HOFFMAN (1968) ont montré que les effets de ce facteur sont variables d'une souche de ratte à l'autre et fonction de la durée de l'exposition et de l'âge de l'animal

En 1956 JOCHLE démontre que des femelles placées à l'obscurité à l'âge de 80 jours présentent un allongement notable du cycle oestral. En 1967 J.C. HOFFMAN étudie les effets de la privation de lumière, chez des rattes immatures et adultes. Le trait le plus frappant de ses conclusions est le suivant : les animaux privés de lumière à l'âge de trois semaines continuent à avoir des cycles réguliers, par contre les animaux privés de lumière à l'âge de 90 jours, donc adultes, montrent un allongement très notable des cycles avec parfois un arrêt de toute activité cyclique.

Si l'activité cyclique débute alors que l'animal est privé de lumière, celui-ci peut présenter une activité cyclique normale en l'absence de lumière, cependant la réduction de poids des ovaires et de l'hypophyse suggère un léger déficit en gonadotrophines Par contre, si l'activité cyclique de l'animal débute en présence de lumière, la continuation d'une activité normale parait dépendre de la présence de ce facteur, et sa suppression, dans ces conditions, a un profond retentissement chez la plupart des animaux ; ceci confirme les travaux de JOCHLE (1956). La privation de lumière à l'âge de 90 jours entraîne une désynchronisation du cycle (HOFFMAN 1967), les cycles deviennent plus longs, avec fréquemment un dioestrus allongé. La diminution de poids, de l'utérus et des ovaires chez les animaux en anoestrus et l'absence de récents corps jaunes démontrent que la secrétion de gonadotrophines est considérablement diminuée ; la diminution de poids de l'hypophyse et des surrénales suggère une insuffisance pituitaire ; la lumière apparaît donc nécessaire à un fonctionnement correct de l'axe hyporhalamo —hypophyso-ovarien chez la ratte.

En 1967, Cl. ARON, M. LUXEMBOURGER et D. CHATEAU étudient l'action de l'obscurité sur des rattes Wistar ; celles-ci sont privées de lumière dès leur naissance et à partir de la troisième semaine de la vie post-natale, ici intervient tout particulièrement la durée de l'exposition.

L'obscurité totale chez des femelles exposées dès leur naissance, durant les six premières semaines de la vie post-natale, retarde l'avènement de la maturité génitale ; alors qu'une mise à l'obscurité débutant à la troisième semaine de la vie post-natale ne modifie que très peu le moment de l'ouverture vaginale par rapport aux animaux témoins.

Chez les femelles soumises à l'obscurité à l'âge de trois semaines, le nombre des corps jaunes n'est pas modifié par rapport au témoins; chez les femelles maintenues en chambre noire dès leur naissance les corps jaunes ont un aspect identique à ceux des femelles soumises à un rythme normal d'éclairement journalier. Il n'y a pas de différence entre la fréquence des cycles anovulatoires établie chez des rattes mises à l'obscurité dès la troisième semaine et celle des animaux témoins ; ce qui est en accord avec les travaux de J.C. HOFFMAN (1967).

On constate donc chez des femelles mises à l'obscurité dès leur naissance, un retard de la maturité sexuelle, contrairement à celles qui ont été placées à l'obscurité à partir de la troisième semaine de la vie post-natale. L'obscurité possède une action relative sur l'activité gonadotrope hypophysaire initiatrice de la maturité génitale ; cependant une fois cette dernière atteinte, Cl. ARON et M. LUXEMBOURGER constatent que chez les femelles mises à l'obscurité dès leur naissance, il se produit une augmentation du nombre des cycles alternés de 4 jours et de 5 jours, donc un certain degré de désynchronisation des mécanismes impliqués dans la décharge de gonado par la pré-hypophyse. Les effets variables de l'obscurité sur la fonction ovarienne de la ratte, sont peut-être sous la dépendance de l'Epiphyse ; l'effet en est très net chez le hamster, chez ce dernier l'obscurité entraine une involution profonde de l'ovaire, d'origine épiphysaire, dont l'intensité n'est pas atteinte même chez la ratte la plus sensible (Cl. ARON, M. LUXEMBOURGER et D. CHATEAU).

En 1968, J.C. HOFFMANN étudie chez des rattes la relation qui peut exister entre la longueur du cycle et la durée de l'exposition à la lumière. Il utilise à cette fin des ratter Sprague-Dawley, réparties en divers groupes auxquels il donne un éclairement journalier de durée croissante, 12 heures, 14 heures et 16 heures ; le pourcentage de cycles de 4 jours, de cycles de 5 jours et de cycles irréguliers, en fonction de la durée de l'éclairement est donné par les tableaux suivants :

Groupe soumis à 12 heures d'éclairement et à 12 h d'obscurité

70 % des animaux ont des cycles de 4 jours

20 % des animaux ont des cycles de 5 jours

10 % des animaux ont des cycles irréguliers, passant d'un cycle à l'autre

Groupe soumis à 14 heures d'éclairement et à 10 h d'obscurité

41 % des animaux ont des cycles de 4 jours

28 % des animaux ont des cycles de 5 jours

31 % des animaux ont des cycles irréguliers

Groupe soumis à 16 heures d'éclairement et à 8 h d'obscurité

21 % des animaux ont des cycles de 4 jours
46 % des animaux ont des cycles de 5 jours
33 % des animaux ont des cycles irréguliers.

"Tiré de J.C. HOFFMANN. 1968"

Ainsi, dans le premier groupe soumis à un éclairement journalier de 12 heures, les cycles sont très réguliers et presque exclusivement de 4 jours, contrairement au groupe soumis à 16 heures d'éclairement journalier ; par conséquent, la durée de l'éclairement journalier influence la durée du cycle. Les deux facteurs qui influent probablement sur la longueur des cycles, sont le taux de croissance folliculaire, le taux de secrétion des oestrogènes et le seuil hypothalamique à partir duquel la L.H. peut être libérée lors de la période critique.

Ceci implique que les animaux soumis à un éclairement journalier de 12 heures ont un taux de croissance folliculaire plus rapide que ceux recevant un éclairement journalier de 16 heures, en effet 46 % des animaux de ce groupe ont un cycle de 5 jours.

La lumière, stimulant de la secrétion oestrogénique, avance quand elle est continue la puberté et entraîne éventuellement chez la ratte adulte un oestrus vaginal persistant. Il semble donc que les animaux à photopériode journalière la plus courte puissent atteindre leur seuil de libération de L.H. le plus bas assez tôt et ont ainsi des cycles de 4 jours ; par contre, les animaux à photopériode journalière plus longue atteignent leur seuil de L.H. le plus élevé plus tard et ont des cycles de 5 jours. L'éclairement journalier influe sur la longueur des cycles ; les différences de durée de 4 jours à 5 jours semblent être dues à des altérations des mécanismes de "feed back", de telle façon que les seuils à partir desquels la secrétion de gonadotrophines est supprimée ou à partir desquels la libération ovulatoire de L.H. est stimulée, sont élevés et d'autant plus élevés que la photopériode journalière est plus longue (J.C. HOFFMANN 1968). Ceci est semble-t-il loin d'être la règle générale ; il y a en particulier des variations d'une souche de rattes à l'autre ; ainsi chez les rattes Holtzman la majorité des animaux

présente des cycles de 5 jours, même avec 12 heures d'éclairement et 12 heures d'obscurité journalière.

3°) Les facteurs hormonaux

De nombreuses hormones peuvent avoir une influence sur la durée du cycle, notamment allonger des cycles de 4 jours à 5 jours ou raccourcir des cycles de 5 jours à 4 jours (J.J. ALLOITEAU - P. ASCHEIM, 1967 - G. ACKER et J.J. ALLOITEAU 1968, 1968, 1968).

a) Les Oestrogènes

L'oestradiol peut allonger des cycles de 4 jours, à 5 jours et même 6 jours. Injectée à dose faible, de l'ordre de 0,1 microgramme, le jour de l'oestrus, matin et soir de l'oestrus vaginal, l'hormone provoque un allongement des cycles de 4 jours à 5 jours. Les cycles allongés par l'oestradiol ont tous les caractères des cycles spontanés de 5 jours, l'ovulation étant retardée de 24 heures. Après l'allongement d'un cycle, les cycles suivants retrouvent généralement leur durée de 4 jours. Pendant le proestrus et le metoestrus l'injection est inefficace. Des injections répétées de 0,1 microgrammes deux à trois jours de suite n'élèvent pas la proportion des cycles allongés, mais tendant à les porter à plus de 5 jours. Les corps jaunes convertissent certains androgènes en oestrogènes avec un rendement de 1 %, ainsi une injection de 20 microgrammes de testostérone administrée le jour de l'oestrus se révèle efficace dans 50 % des cas ; le traitement étant plus actif le soir que le matin (G. ACKER et J.J. ALLOITEAU).

Par contre, une dose de 33 microgrammes à 100 microgrammes d'oestradiol donnée le troisième jour d'un cycle de 5 jours, avance l'oestrus et l'ovulation de 24 heures ; les cycles de 5 jours pouvant donc être raccourcis à 4 jours par les oestrogènes.

b) La progestérone

La progestérone donnée à la dose unique de 1,5 milligramme le troisième jour d'un cycle de 4 jours est sans effet sur la durée du cycle.

Cette hormone injectée le deuxième jour d'un cycle de 4 jours, allonge à 5 jours les cycles de 4 jours, manifestant ainsi son effet anti-ovulatoire. Par contre cette même hormone injectée le quatrième jour

d'un cycle de 5 jours, avance l'ovulation et l'oestrus de 24 heures, manifestant ainsi un effet opposé proovulatoire (G. ACKER - J.J. ALLOITEAU) ; ce traitement est inefficace le troisième jour. Cet effet ovulatoire de la progestérone, le quatrième jour d'un cycle de 5 jours, se manifeste dans tous les cas, qu'il s'agisse d'un cycle spontané de 5 jours ou d'un cycle artificiellement allongé à 5 jours. La progestérone stimule la secrétion de L.H par l'hypothalamus, l'effet étant supprimé par la dibenamide, l'atropine ou le nembutal.

c) La H.C.G.

L'injection par voie sous-cutanée de 15 unités internationales de HCG, le troisième jour d'un cycle de 4 jours, entraîne un allongement du cycle à 5 jours ; les autres jours l'injection demeure sans effet.

Une injection de HCG donnée le jour de l'oestrus, raccourcit à 4 jours les cycles de 5 jours; la HCG injectée le quatrième jour avance l'ovulation de 24 heures.

d) La Prolactine

Une injection unique de Prolactine peut porter la durée des cycles de 4 jours à 5 jours (G. ACKER - J.J. ALLOITEAU) ; la réponse est fonction de la dose injectée et surtout de la date de l'injection, l'effet étant maximal le deuxième jour, le matin ou le soir. La sensibilité de la ratte à la Prolactine est maximale le soir du metoestrus d'un cycle de 4 jours. Les cycles de 4 jours allongés par la Prolactine ont tous les caractères de cycles spontanés de 5 jours ; lorsqu'un cycle a été allongé, il y a en général un retour à la durée habituelle dès le cycle suivant.

La Prolactine stimule la secrétion de progestérone par le corps jaune à condition que celui-ci ne soit pas trop vieux (J.J. ALLOITEAU - P. ASCHEIM, 1967 ; G. ACKER et J.J. ALLOITEAU 1968) ; en effet, ce dernier cesse d'être aisément réactivable le troisième jour au matin pour les cycles de 4 jours et au plus tard dans la nuit du troisième au quatrième jour pour les cycles de 5 jours. La prolactine est, au moins chez la ratte pseudogestante, le stimulant fonctionnel du corps jaune, suscitant une secrétion élévée mais fugace de progestérone. Ainsi les cycles de 5 jours ne se distingueraient des cycles de 4 jours que par une secrétion

plus abondante de Prolactine, dans la soirée du métoestrus (G. ACKER - J.J. ALLOITEAU, 1968).

L'ergotoxine ou l'ergocornine interrompent la pseudo gestation, en bloquant la secrétion de Prolactine par une action directement hypophysaire. Une injection faite le jour de l'oestrus ou le lendemain n'abrège pas les cycles de 5 jours.

Il semble donc que des doses minimales d'oestradiol injectées le jour de l'oestrus aient le même effet que la Prolactine injectée le deuxième jour, indiquant ainsi que l'oestradiol contrôlerait la secrétion de Prolactine, celle-ci réglant à son tour la secrétion de Progestérone (G. ACKER, J.J. ALLOITEAU, 1968).

4°) Influence de l'altitude

En 1969 José DONAYRE cherche à étudier les effets de l'altitude sur le cycle oestral. Les facteurs influençant le cycle en haute altitude sont d'une part un certain degré d'hypoxie et d'autre part, la température ambiante qui est basse. Des rattes sont transposées à une altitude de 4500 mètres ; certaines sont laissées à la température ambiante, d'autres placées à 23°C, et celà pendant 90 jours. Au début se produit une légère tendance à l'anoestrus due probablement au changement soudain d'environnement. Au bout de 30 jours les rattes présentent des épisodes d'oestrus prolongé, résultant de la relative hypoxie ; cependant l'oestrus est moins prolongé chez les rattes exposées au froid que chez celles qui sont placées à 23°C, cela étant du évidemment à l'effet d'anoestrus du froid. Lorsque les animaux sont redescendus au niveau de la mer, ils retrouvent leur cycle habituel.

## IV - Ovulation spontanée et ovulation provoquée

La ratte ovule spontanément tous les quatre ou cinq jours ; or dans un nombre non négligeable de cas, la ponte peut être provoquée chez la ratte ; Cl. ARON et G. ASCH l'ont montré en 1961.

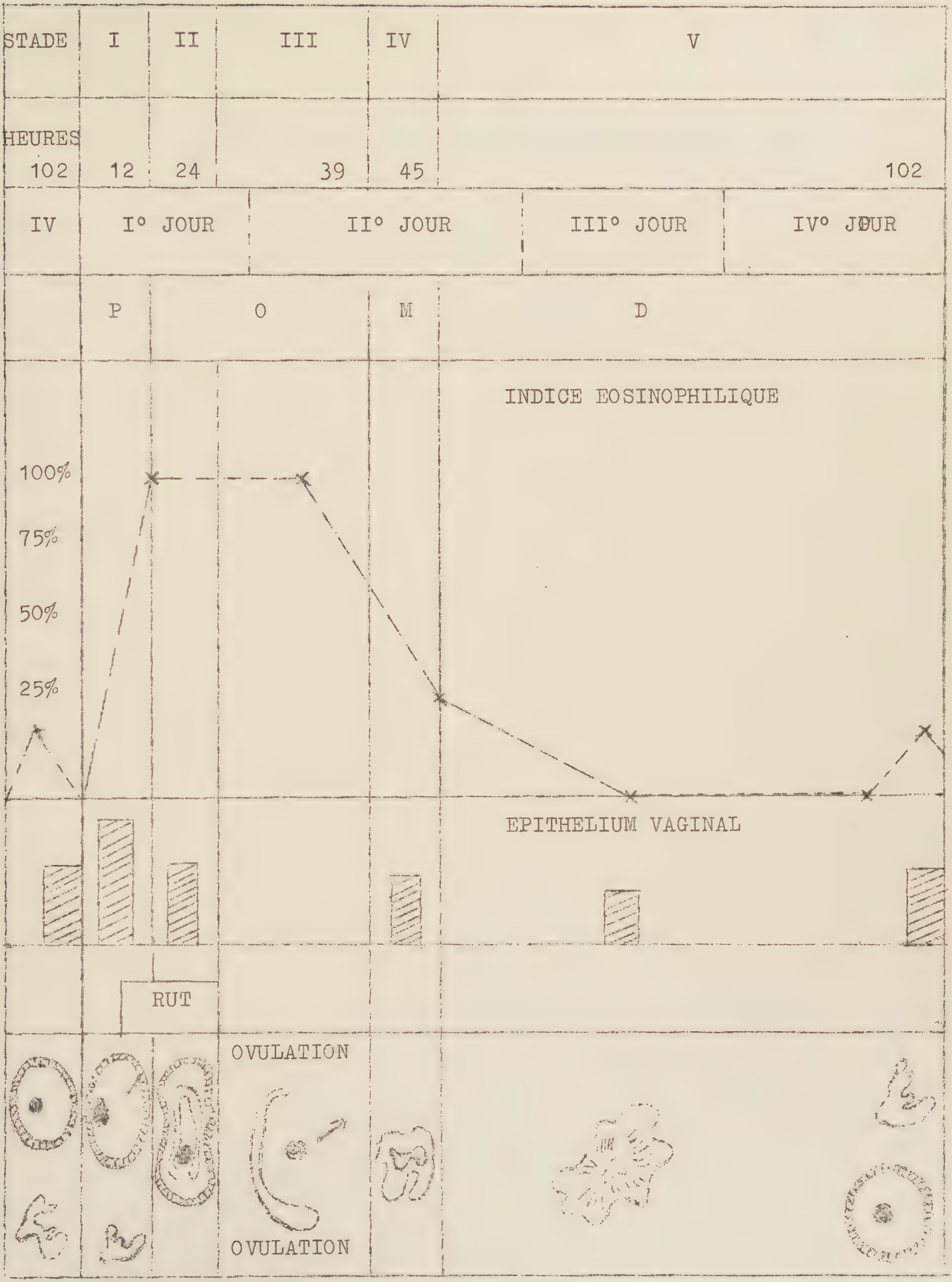
Il est possible chez des rattes présentant des cycles de 4 jours de susciter l'acceptation du mâle par la femelle dans la nuit du deuxième au troisième jour, soit 24 heures avant la phase normale de copulation et

celà grâce à l'administration d'une dose non lutéinisante d'oestradiol. Le coït ainsi provoqué peut déclencher prématurément la ponte ovulaire en vertu d'un réflexe neuroendocrinien à relais hypothalamiques. Cl. ARON et G. ASCH font cohabiter 24 heures avant la phase normale de copulation, des mâles et des femelles non préparées par l'oestradiol ; ils constatent que l'acceptation prématurée du mâle par la femelle peut se réaliser avec de telles conditions dans 7 % de cas environ au cours de cycles de 4 jours, mais beaucoup plus fréquemment, 50 % des cas, au cours de cycles de 5 jours.

Le coït ainsi effectué au cours de cycles de 4 jours reste sans effet ovulatoire, alors que réalisé dans la nuit du troisième au quatrième jour de cycles de 5 jours il suscite des phénomènes ovulatoires prématurés dans 30 % des cas environ. Donc chez ces femelles le mécanisme de ponte provoquée est susceptible d'intervenir dans 30 % des cas, dans les conditions d'une cohabitation des femelles et des mâles durant tout le cycle oestral.

Les phénomènes de lutéinisation ou de ponte provoquée chez la ratte, peuvent également être suscités artificiellement par la stimulation mécanique du vagin et du col utérin (Cl. ARON, G. ASCH et J. ROOS, 1968). Le Meprobamate bloque les effets de la stimulation mécanique utéro-vaginale. Il se peut donc que cette inhibition s'exerce sur les structures nerveuses contrôlant l'activité gonadotrophique préhypophysaire, donc hypothalamique, et et que les phénomènes de lutéinisation suscités par une stimulation à point de départ génital, soient liées, comme ceux résultant d'un coït précoce au cours du cycle oestral chez la ratte, à une décharge réflexe de gonadostimulines, faisant intervenir le relais hypothalamique (Cl. ARON, G.ASCH et J. ROOS, 1968).

Schéma du cycle complet chez la Ratte ( d'après Z.JAWORSKI.1950)




P: PROESTRUS; O: OESTRUS; M: METOESTRUS; D: DIOESTRUS

## II - ANATOMIE MACROSCOPIQUE ET MICROSCOPIQUE DU TRACTUS GENITAL

# A. L'OVAIRE

Les ovaires sont des organes pairs, symétriques, ovoïdes ou légèrement reniformes, d'aspect mûreforme ; leur grand axe mesure 60 millimètres environ, leur petit axe 40 millimètres. Sur une coupe longitudinale médiane apparaissent deux zones, l'une périphérique encore appelée corticale comportant les follicules et les corps jaunes, l'autre centrale ou médullaire, très vascularisée ; par le hile de l'organe arrivent les vaisseaux et les nerfs. L'ovaire présente à décrire au point de vue histologique,

L'épithélium de revêtement

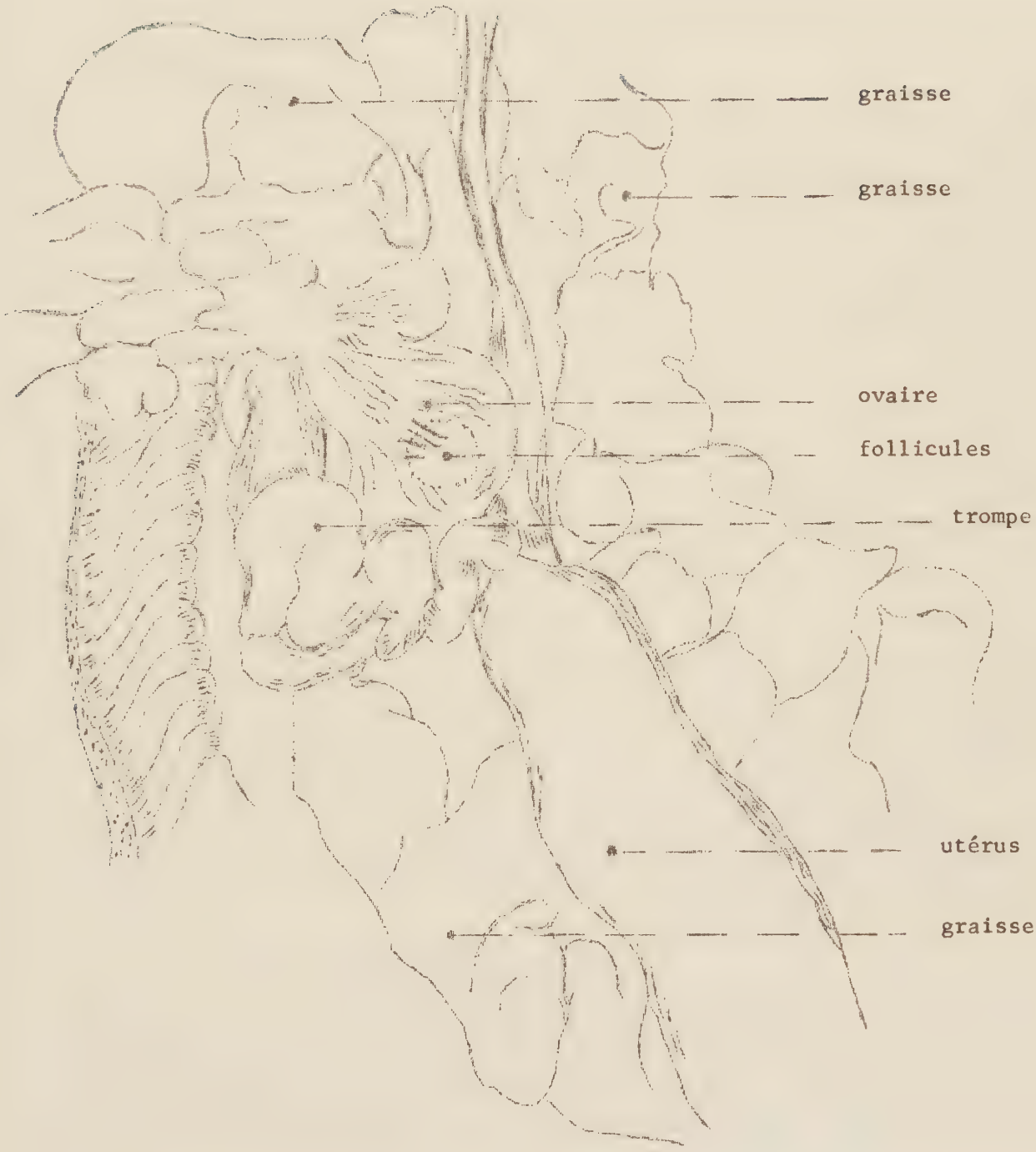
l'appareil folliculaire, ses différents constituants et leur devenir

le tissu interstitiel

le stroma.

## I - L'épithélium de revêtement

La surface de l'ovaire est recouverte d'un épithélium encore appelé "épithélium germinatif", se poursuivant avec le mésothélium péritonéal de la région hilaire (R.J. HARRISON 1962 ; S. SATO 1965 F. UYTTENBROECK 1967). Il est constitué de cellules cuboïdes, à noyaux arrondis, reposant sur une membrane basale ; la zone de tissu conjonctif sous jacente, généralement peu épaisse est dénommée par certains auteurs "albuguée" à tort d'ailleurs, car elle ne présente jamais un aspect aussi dense et fibreux comparable à celui de l'albuginée du testicule. S. SATO en 1965 décrit l'ultrastructure de cet épithélium ; les cellules sont cuboïdes, reliées entre elles par l'intermédiaire de complexes de jonction, l'espace intercellulaire est habituellement dilaté et rempli de substance liquide. Elles possèdent parfois à leur pôle apical, des microvillosités et des stéreocils. Le cytoplasme comporte un nombre important d'organites, notamment des lysosomes et des formations fibrillaires groupées en amas. Aux pôles apical et basal, se trouvent des vésicules de pinocytose ; S. SATO en déduit qu'un transfert actif de substances peut exister au niveau de cet épithélium.




Dessin tiré de GREENE E.C. (1963). OVAIRE EN PLACE.

## II - L'appareil folliculaire

Ses différents constituants sont les follicules quiescents et les follicules évolutifs que l'on divise en follicules primaires, secondaires, tertiaires et cavitaires : parmi ces derniers les follicules mûrs, préovulatoires, sont appelés follicules de De Graaf.

### 1°) Sttucture des follicules en Microscopie optique

#### a) Les follicules quiescents

Ils sont constitués d'un ovocyte situé en position centrale, entouré d'une couche de cellules épithéliales très aplaties à extrémités plus ou moins allongées ; ce sont les cellules folliculeuses, "nurse cells" des auteurs anglosaxons. Ces follicules subissent le phénomène de maturation qui les transforme tout d'abord en follicules primaires, secondaires, puis cavitaires, de morphologie caractéristique, aboutissant aux follicules mûrs.

#### b) Les follicules évolutifs

Au fur et à mesure de la croissance folliculaire, les cellules folliculeuses se différencient et se multiplient ; le stroma ovarien à leur contact participe à l'accroissement folliculaire.

- Les follicules primaires

Les cellules folliculaires se multiplient, deviennent cubiques et forment une couronne caractéristique, entourant l'ovocyte. Une membrane basale mince sépare les cellules folliculeuses du stroma ovarien environnant ; et l'on peut déjà observer au niveau de celui-ci, au contact du follicule (H.W. DEANE 1951) de nombreux capillaires ainsi que des éléments cellulaires de petite taille, allongés, fusiformes qui seront à l'origine des futures thèques.

- Les folliculeuses secondaires

Au cours de ce stade les cellules folliculaires entourant l'ovocyte, se multiplient par mitose et forment la membrane granulosa, constituée de plusieurs couches de cellules folliculeuses cubiques. Les éléments du stroma entourant ces follicules se différencient en une thèque interne bien vascu-

larisée et en une thèque externe fibreuse. De nombreux vaisseaux pénètrent lathèque externe afin de communiquer avec le plexus vasculaire de la thèque interne. Déjà apparaît autour de l'ovocyte la zone hyaline.

- Les follicules tertiaires

Les cellules de la prolifèrent activement, ainsi que les éléments des couches thécales, ces dernières comportant des capillaires de grand calibre. L'ovocyte est en position franchement excentrique, la zone pellucide est vien visible. En certaines régions de la granulosa, les éléments cellulaires sont disjoints par la formation de petites cavités "les corps de Call Exner". Chez la ratte et de nombreuses autres espèces, il n'existe pas de "corps de Call Exner" typiques, contrairement à la lapine et la femme (P. MOTTA et E. NESCI, 1969) ; tout au plus les cellules folliculeuses ont tendance à s'arranger de façon radiaire autour d'une zone centrale, formant ainsi des sortes de "rosettes", "corps de Call Exner" atypiques.

- les follicules cavitaires

Petit à petit, "les corps de Call Exner" s'agrandissent et forment par influence une cavité unique, l'antrum. Il est toujours possible de décrire des stades intermédiaires, en effet la croissance folliculaire est très importante.

- le follicule mûr ou follicule de De Graaf

C'est un follicule de grand diamètre, 900 microns environ ; le diamètre de l'ovocyte est de 90 microns (H.W. DEANE 1951 ; BRAMBELL 1961 ; BOLING J.L. ; BIANDAU R.J. SODERWALL A. L. et YOUNG C. 1941). L'antrum s'est considérablement agrandi ; il contient le liquide folliculaire, résultant soit de la secrétion des cellules de la thèque interne, soit de la secrétion des cellules de la granulosa, ou tirant son origine d'une part de la secrétion des cellules de la granulosa et d'autre part, d'une filtration à partir des capillaires de la thèque interne.

La membrana granulosa paraît amincie ; elle est formée de cellules folluculeuses disposées en plusieurs couches ; elles sont assez volumineuses, polygonales ou cuboïdales, à cytoplasme légèrement granuleux, et dont le noyau est ovalaire, dense, chromatophile.

L'ovocyte est situé en position excentrique, au sommet d'un massif de cellules folliculeuses constituant le cumulus proliger ; à ce niveau les cellules folliculeuses, au contact de l'ovocyte, sont cylindrocubiques, pourvues d'un noyau en périphérie et prennent une disposition radiaire par rapport à l'ovocyte, formant ainsi la corona radiata.

Les cellules de la thèque interne sont polygonales ; leur cytoplasme est vacuolaire, leur noyau vésiculeux. La thèque interne contient un plexus de capillaires artériels et veineux et aussi de nombreux lymphatiques Son degréde développement est toujours maximal avant l'ovulation. La thèque interne n'a pas une épaisseur égale tout autour des follicules ; elle est hypertrophiée dans la région du cumulus proliger par contre elle s'amincit au niveau de l'endroit probable de la rupture du follicule.

La thèque externe est formée de fibres de collagène et de fibrocytes, comportant en outre quelques fibres musculaires lisses.

La zone pellucide entourant l'ovocyte est bien développée : nous verrons d'ailleurs la structure de cette dernière en microscopie électronique, ainsi que les rapports existant entre les cellules folliculeures de la corona radiata et l'ovocyte.

Juste avant l'ovulation la membrane banale de la granulosa commence à se fragmenter et une invasion de cellules thécales accompagnées de leurs capillaires commence à apparaître au niveau de la granulosa ; les cellules thécales sont remplies de goutelettes lipidiques ; les cellules du cumulus proligerapparaissaient quelque peu disjointes.
R.J. BLANDAU et R.E. RUMERY en 1963, ont mesuré les pressions du liquide folliculaire dans les follicules de De Graaf et les follicules cavitaires en période préovulatoire ; les valeurs des pressions moyennes sont les suivantes :

la pression du liquide folliculaire est exprimée en centimètres d'eau

Follicules de De Graaf :

Nombre 113 - Pression moyenne : 23,1 Ecart : 17,4 - 28,9

Follicules de taille intermédiaire

Nombre : 82 - Pression moyenne : 21,9 - Ecart : 14-3 - 27,0

Petits follicules avec austrum

Nombre : 55 - Pression moyenne : 19,0 - Ecart : 13,4 - 26,5

"Tableau tiré de R.J. BLANDAU et R.E. RUMERY (1963)"

Les variations de pression sont somme toute assez faibles, R.J. BLANDAU et R.E. RUMERY en concluent que la rupture du follicule ne peut être uniquement due à l'augmentation de pression du liquide folliculaire. Les facteurs suivants de type purement mécanique, sont susceptibles de précéder et d'accompagner l'ovulation ;

- Accroissement rapide de la pression intrafolliculaire, due à une augmentation de l'activité secrétoire des cellules de la granulosa ou des cellules thécales et une dépolymerisation du liquide folliculaire,

- Modification de la paroi des follicules préovulatoires par l'action d'enzymes protéolytiques provenant du liquide folliculaire

- Contractions des fibres musculaires lisses entourant le follicule, dans la thèque externe, comprimant le contenu folliculaire et aboutissant à la rupture de la paroi

- Ischémie locale au niveau du stigma

- Augmentation de la pression artérielle dans les vaisseaux qui entourent le follicule

- gonflement et écartement des cellules du cumulus oophorus
- oedème de la thèque interne et du stroma environnant.

2°) Notions sur la croissance folliculaire

En 1951, H.W. DEANE étudie au cours du cycle l'augmentation de taille de l'ovocyte et du follicule, en partant d'un follicule quiescent pour arriver à un follicule mûr. La mesure du diamètre de l'ovocyte est faite en incluant la zone pallucide ; le diamètre du follicule inclut la thèque

interne. L'ovulation se produit environ 109 heures après le début de la maturation du follicule quiescent (H.W. DEANE 1951). Les résultats de cet auteur sont consignés dans le tableau suivant :

| Stade du cycle | Age du follicule | Diamètre de l'ovocyte (microns) | Diamètre du follicule (microns) |
|---|---|---|---|
| Proestrus | Instant zéro | 25 | 50 |
| Oestrus | 10 heures | 60 | 130 |
| Metoestrus | 24 heures | 70 | 200 |
| Dioestrus I | 48 heures | 70 | 500 |
| Dioestrus II | 72 heures | 80 | 660 |
| Proestrus | 96 heures | 85 | 750 |
| Oestrus | 106 heures | 90 | 900 |

"Tableau tiré de H.W. DEANE (1951)"

En 1939 Ch. LANE et F.R.DAVIS étudient la croissance folliculaire et l'activité mitotique de la granulosa et de la thèque interne pendant le cycle (voir tableau I). Sur 90 % de la quantité totale des follicules comptés dans toutes les phases, 90 % ont un diamètre inférieur à 300 microns. Les follicules de diamètre supérieur se répartissent de la façon suivante, en les évaluant en pourcentage :

| | |
|---|---|
| Dioestrus | 7 % |
| Proestrus | 7,6 % |
| Oestrus | 8,8 % |
| Metoestrus | 6,9 % |

Dans les ovaires de ces rattes il est possible de trouver des folliçules, dont le diamètre est compris entre 600 et 700 microns, à toutes les phases du cycle sauf lors du metoestrus ; cependant ces follicules augmentent légèrement durant le proestrus et l'oestrus, dioestrus : 1 ; proestrus : 3 oestrus : 3'. Jusqu'à 200 microns de diamètre, l'augmentation de volume de la granulosa et de la thèque interne est faible ; puis à partir de

| Diamètre des follicules en microns | DIOESTRUS | | PROESTRUS | | OESTRUS | | METOESTRUS | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Nombre | % | Nombre | % | Nombre | % | Nombre | % |
| 35 - 100 | 130 | 61,3 | 72 | 53,3 | 63 | 50,0 | 89 | 56,4 |
| 101 - 200 | 55 | 26,0 | 43 | 31,8 | 41 | 32,5 | 48 | 30,4 |
| 201 - 300 | 12 | 5,7 | 11 | 8,1 | 11 | 8,7 | 10 | 6,3 |
| 301 - 400 | 7 | 3,3 | 2 | 1,5 | 5 | 3,8 | 6 | 3,8 |
| 401 - 500 | 4 | 0,9 | 1 | 0,7 | 1 | 0,8 | 5 | 3,1 |
| 501 - 600 | 3 | 1,4 | 3 | 2,2 | 2 | 1,6 | 0 | |
| 601 - 700 | 1 | 0,4 | 3 | 2,2 | 3 | 2,5 | 0 | |
| Moyenne totale | 212 | | 135 | | 126 | | 158 | |

Distribution moyenne des follicules pendant le cycle oestral, quant à leur taille
Tiré de LANE Ch. - DAVIS F.R. (1939) (Rattes adultes).

| AGE (en J` | Nombre d'animaux | Poids de l'ovaire | Follicules I° | Follicules vésiculaires | Follicules total | Erreur | Follicules vésicul. | Erreur |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 4 | 2,3 | 360 | 49 | 409 | 33,5 | 11,9 | 2,2 |
| 18 | 3 | 3,5 | 302 | 51 | 353 | 21,4 | 14,4 | 1,3 |
| 22 | 11 | 5,9 | 317 | 52 | 369 | 33,5 | 13,6 | 3,5 |
| 28 | 14 | 6,L | 210 | 84 | 294 | 17,2 | 29,2 | 4,8 |
| 33 | 3 | 7,2 | 224 | 132 | 356 | 37,6 | 36,5 | 2,2 |
| 37 | 2 | 7 | 147 | 98 | 245 | 30,7 | 39,2 | 3,7 |
| 38 | 3 | 8,7 | 161 | 112 | 273 | 35,8 | 40,8 | 1,9 |
| 39 | 3 | 7,6 | 179 | 88 | 267 | 24,9 | 33,4 | 4,5 |
| 44 | 4 | 8,1 | 132 | 74 | 206 | 28,8 | 34,3 | 3 |
| 45 | 4 | 6,9 | 166 | 57 | 223 | 12,2 | 29,9 | 4,3 |
| 56 | 2 | 7,5 | 155 | 67 | 222 | 25,8 | 29,4 | 4,2 |
| 64 | 2 | 8 | 80 | 55 | 135 | 33,7 | 40,2 | 2,1 |
| 66 | 2 | 8 | 92 | 90 | 182 | 30,5 | 49,9 | 3 |

Appareil folliculaire normal de l'ovaire de rattes à des âges variés
Tiré de LANE. Ch (1935).

200 microns, la granulosa s'accroît plus rapidement que la thèque, ceci étant dû à l'activité mitotique croissante de ces follicules, à toutes les phases du cycle. Une activité mitotique croissante se produit également au niveau de la thèque interne, augmentant régulièrement jusqu'à l'ovulation : cependant l'augmentation de volume est moindre que celle de la granulosa.

Ch. LANE et E.B. DAVIS décrivent trois stades à la croissance de l'antrum Jusqu'à un diamètre de 300 microns l'augmentation de volume est faible ; de 300 à 600 microns de diamètre la croissance tend à être régulière, mais plus rapide ; c'est dans les follicules atteignant 600 à 700 microns de diamètre que la croissance de l'antrum est la plus rapide.

Dans les follicules de diamètre inférieur à 200 microns, l'activité mitotique de la granulosa est faible à tous les stades ; cette dernière augmente dans les follicules de 200 à 300 microns de diamètre, pour atteindre un point culminant, le follicule atteignant un diamètre de 400 microns ; à partir de là l'activité mitotique décline progressivement jusqu'à l'ovulation. L'activité mitotique de la thèque suit une courbe parallèle, mais avec un pic moins élevé lorsque le follicule atteint la taille de 400 microns.

BRAMBELL en 1962 mesure le diamètre de follicules ovariens, chez de jeunes femelles pesant 120 grammes, aux différentes phases de maturation :

| | |
|---|---|
| Diamètre du follicule à la fin de la première phase | : 160 microns |
| Diamètre du follicule quand la cavité apparaît | : 200 microns |
| Diamètre du follicule à maturité | : 900 microns |

La croissance folliculaire se fait en deux phases. Pendant la première phase, l'ovocyte se développe, alors que le follicule augmente faiblement de taille ; la deuxième phase est caractérisée par une croissance rapide et importante du follicule, avec formation de l'antrum et aussi développement de la théque interne, avec un maximum de développement juste avant l'ovulation, alors que l'ovocyte n'augmente que très légèrement de diamètre (voir tableau de H.W. DEANE, 1951).

Cas particulier : Follicules polyovulaires et ovocytes plurinuclées

H.A. KENT en 1960 étudie la répartition de ces différents éléments chez des rattes sprague-Dawlay dont l'âge s'échelonne entre 21 jours et 70 jours (voir tableau). Pour A.B DAWSON (1951) il existe toutefois une si grande disparité de taille des ovocytes, dont les follicules polyovulaires, que l'on peut parler d'ovocyte principal et d'ovocyte secondaire. Pour H.A. KENT, les anomalies nucléaires des ovocytes résulteraient d'une division nucléaire sans division cytoplasmiques, entrainant ainsi la formation d'ovocytes multinuclées. Quant aux follicules polyovulaires, ils résulteraient probablement (A.B. DAWSON 1951) de l'incorporation de plusieurs ovocytes par les cellules folliculeires, au tout premier stade de développement folliculaire.

3°) Ultrastructure des follicules ovariens

C'est à dire l'ultrastructure de l'ovocyte, de la granulosa, des thèques interne et externe, ainsi que les relations particulières et complexes qui s'établissent entre l'ovocyte et les cellules folliculeires l'entourant. De nombreux auteurs se sont attachés à étudier ce sujet ; O. TRUJILLO-CENOZ et J.R. SOTELO (1959) ; J.R. SOTELO (1959') ; J.R. SOTELO et H.R. PORTER (1959') ; L.L.FRANCHI (1960') ; D.L. ODOR (1960') ; W. BELT (1962') ; N.BJORKMAN (1962') ; L.L.FRANCHI et A.M. MANDL (1962') ; R. HADEK (1965') ; S. SATO (1965) ; B. FLERKO, F. HADJOS et Gy. SETALO (1967') ; J. MARTINEK et R. KRAUS (1967) ; G.H. VAZQUEZ-NIN et J.R. SOTELO (1967') ; I.M. BACCARINI (1968') ; P. MOTTA, E. NESCI et Z. TAKEVA (1969) ; L. OSVALDO-DECIMA (1970) ; J.D. O'SHEA (1970).

a) les Ovogonies

Selon L.L. FRANCHI et A.M. MANDL (1962'), les cellules trouvées dans les ovaires foetaux de rattes, entre les quatorzième et dix-septième jour "post-coïtum", le coït ayant été évidemment fécondant. sont des ovogonies ; c'est entre les quinzième et seizième jours que l'activité mutotique est la plus intense.

- Le noyau

Il est fréquemment excentrique ; pourvu d'un ou plusieurs grands nucléoles ; la membrane nucléaire est très régulière ; la matrice est granuleuse de densité plus forte que celle du cytoplasme.

- Le cytoplasme

La membrane cellulaire est très régulière. La matrice cytoplasmique apparaît granuleuse cela étant dû à une répartition uniforme de petits groupes de particules denses, les ribosomes.

Les Mitochondries sont grandes, ovalaires, comportant un nombre variable de crêtes parallèles.

Le Reticulum entoplasmique est peu développé.

L'Appareil de Golgi est situé près du noyau ; il est constitué de sacs membraneux, aplatis et un certain nombre de vésicules leur sont associés.

Un ou deux centrioles sont parfois visibles.
Il existe entre des cellules adjacentes, des continuités cytoplasmiques, sous forme de ponts cellulaires de largeur variable.

b) Ultrastructure de l'ovocyte

L'ovocyte primaire commence la prophase de la méiose deux à trois jours avant la naissance, trois à quatre jours après la naissance ce dernier est en phase de repos. La phase de repos, comprise entre la fin du stade diplotène et le début de la métaphase de la méiose est très longue, ceci caractérise le sexe femelle contrairement au sexe mâle où elle est courte.

- Les stades de la Prophase de la Méiose

1) Stade Leptotène

Les cellules de la ratte possédent 42 chromosomes (P.H. FITZGERALD, 1961 ; D.A. HUNGERFORD et P.C. NOWELL 1963) répartis en deux groupes, l'un de 22 chromosomes contenant les deux chromosomes sexuels X, l'autre de 20 chromosomes.

Lors du stade leptotène le noyau contient des filaments allongés, les chromosomes, entre les dix huitième et dix neuvième jour "post-coïtum". Ce sont des filaments uniques, d'une épaisseur de 44,5 millimicrons,

fréquemment au contact du feuillet interne de la membrane nucléaire. Le noyau contient en outre un à deux nuclades. La membrane nucléaire est pourvue de pores nets.

L'appareil de Golgi et le Reticulum endoplasmique sont très développés.

2) Stade Zygotène

Ce stade est visible entre les dix neuvième et vingtième jours post coïtum. Le noyau contient des paires de filaments, parfois subsistent des filaments uniques. Chaque filament a un diamètre de 47 millimicrons ; la largeur d'une paire atteint la valeur de 175 millimicrons, l'espace séparant les deux filaments étant de 80 millimicrons. Les nucléoles sont petits, irréguliers, et présentent une discrète striation longitudinale. La membrane nucléaire est plus régulière et ses pores sont moins nets. Dans le cytoplasme le reticulum endoplasmique est bien développé.

3) Le stade Pachytène

Il correspond à la période la plus longue de la prophase de la méiose très net dans de nombreuses cellules entre les vingtième et vingt et unième jours post coïtum et le deuxième jour "post-partum". Le noyau contient des paires de filaments de constitution différente ; en effet, entre les deux filaments d'une même paire se trouve un filament central moins épais, l'ensemble formant une sorte de ruban. La [illegible] de l'ensemble est d'environ 155 millimicrons, celle des filaments latéraux de 46 millimicrons ; le filament central a une largeur de 19 millimicrons, il est séparé de filaments latéraux par deux bandes équidistantes de faible densité et de 29 millimicrons de large. Ces groupes de filaments sont rattachés par une de leurs extrémités au feuillet interne de la membrane nucléaire. Cette dernière est beaucoup moins irrégulières et en certaines régions les pores sont bien visibles. Le réticulum endoplasmique est toujours abondant et les ponts cytoplasmiques entre les ovocytes adjacents, sont beaucoup plus étroits que ceux observés dans les ovogonies.

4) Le stade diplotène

Stade s'établissant du premier au deuxième jour après la naissance, de durée relativement courte. A ce stade un nucléole bien structuré réapparait. Les noyaux comportent des groupes de filaments triples, mais les cellules de ce type deviennent de moins en moins nombreuses et la plupart des cellules germinales ont des caractères nucléaires à peu près identiques à ceux décrits au stade leptotène. De nombreux filaments uniques sont répartis dans le noyau, ils ont un diamètre de 48 millimicrons, souvent attachés par une de leur extrémité au feuillet interne de la membrane nucléaire. La membrane nucléaire est régulière. Les nucléoles ont une structure semblable à celle observée durant la phase de repos. Le reticulum endoplasmique et l'Appareil de Golgi sont très développés, ce dernier contenant fréquemment de nombreuses vésicules distendues.

5) La phase de repos (Dictyac)

A partir du deuxième jour après la naissance, un petit nombre d'ovocytes entrent dans cette phase. Aux environs du quatrième jour après la naissance, la plupart des ovocytes sont dépourvus de chromosomes visibles, alors que certains d'entre eux entrent dans une phase de croissance. Cette phase est très longue et dure jusqu'à l'ovulation. La membrane nucléaire est très régulière, le nucléole de structure complexe. La matrice du noyau est homogène.

- Dans les follicules quiescents

L'ovocyte se situe en phase de repos.

a) Le noyau

- La membrane nucléaire

Elle est formée de deux feuillets denses séparés par un espace plus clair, le feuillet interne se poursuivant avec la matrice nucléaire, granuleuse, homogène. Elle est pourvue de . . Il existe souvent des plages de densité plus grande à limites peu précises.

- Le nucléole

Généralement le noyau ne comporte qu'un seul nucléole ; parfois il peut en exister plusieurs. Ils sont volumineux, situés près de la membrane

nucléaire et de structure complexe ; ce sont des zones de noyau plus ou moins régulières, vaguement arrondies, se présentant sous la forme d'un réseau irrégulier, dont les mailles sont granuleuses, très denses ; les espaces situés entre les mailles apparaissent plus clairs.

b) Le cytoplasme

- Les mitochondries

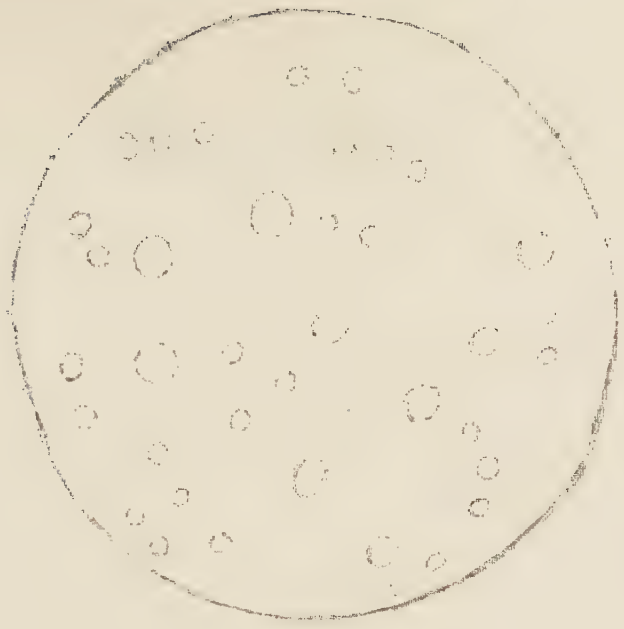
Leur répartition est très irrégulière, leur forme est ovalaire ; elles ne comportent que peu de crêtes ; leur diamètre atteint la valeur de 340 millimicrons environ.

- L'Appareil de Golgi

Il est situé près du noyau, plus ou moins arrondi, mal limité ; la zone centrale est plus claire et comporte deux granules denses . Il est formé de nombreux sacs, à membranes lisses ; l'épaisseur de chaque unité est de 38 millimicrons. Ils sont en étroite association avec de nombreuses vésicules d'un diamètre approximatif de 38 millimicrons ; cet aspect est caractéristique. Souvent plusieurs vacuoles, de grande taille sont associées à cet ensemble. Les granules denses, observés au centre de la zone de Golgi, sont de petits bâtonnets, creux, de 0,1 à 0,2 microns de diamètre ; leur paroi est composée de fins tubules (J.R. SOTELO, 1959) Ce ne sont pas autres choses que les centrioles qui formeront les pôles du fuseau.

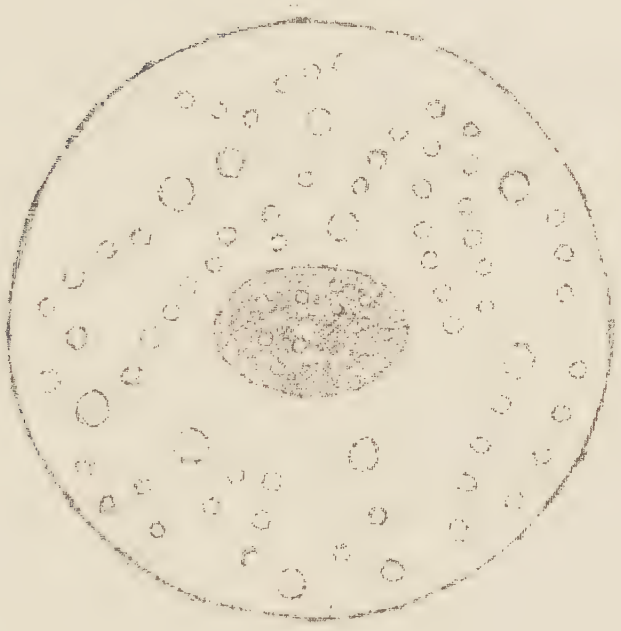
- Les corps multivésiculaires

Formations décrites par J.R. SOTELO et K.R. PORTER en 1959. Ils sont peu nombreux dans l'ovocyte primaire, se répartissant de façon irrégulière dans le cytoplasme. Ces formations sont entourées d'une membrane et contiennent un nombre plus ou moins grand de vésicules, ceci pour le type le plus simple (voir schéma). Il existe également un deuxième type plus complexe : toujours entouré d'une membrane, contenant de nombreuses petites vésicules et en son centre un corps dense appelé "nucleoid" par J.R. SOTELO et K.R. PORTER, contenant lui-même de minuscules vésicules. La taille des corps multivésiculaires varie de 0,1 à 0,6 microns ; celle des vésicules de 10 à 50 millimicrons, avec une moyenne de 29 à 30 millimicrons. Le corps dense central mesure environ 50 à 100 millimicrons. La membrane limitant le corps multivésiculaire a une épaisseur de 5 à 6 millimicrons. Parfois,



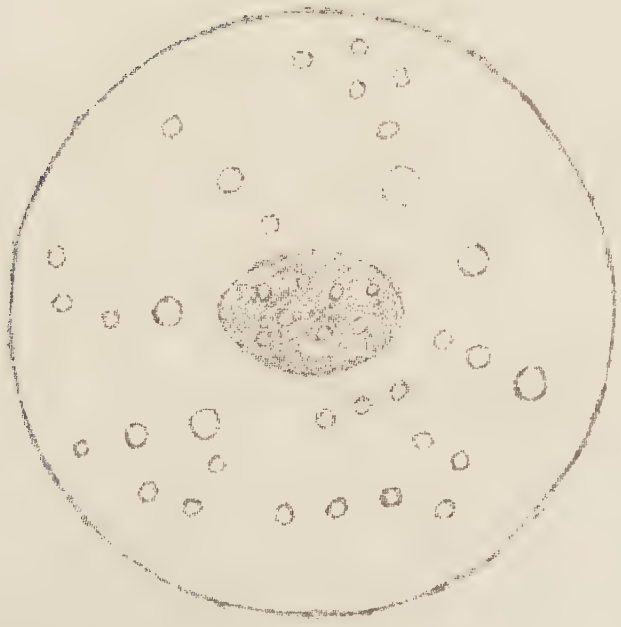
I

TYPE I:
Membrane simple entourant un certain nombre de vesicules



II

TYPE II
Corps dense central contenant de minuscules vésicules, entouré par un nombre variable de vésicules dans une mâtrice dense



III

TYPE III
Corps dense cental contenant de minuscules vésicules, entouré par un nombre variable de vésicules dans une mâtrice de densité moindre

Schéma tiré de J.R.SOTELO et K.R.PORTER (1959):

ces formations peuvent se trouver à proximité de l'Appareil de Golgi. Ces formations peuvent se voir dans le cytoplasma des ovogonies.

- Le Réticulum endoplasmique

Il est peu développé dans le cytoplasma de l'ovocyte primaire. Il est constitué par quelques formations vésiculaires. On n'observe pas de continuité entre ces éléments vésiculaires et la membrane nucléaire.

- Les Ribosomes

Ces granules, ayant approximativement une taille de 20 millimicrons, et colorés de façon élective par l'acétate d'uranyle, se répartissent habituellement par petits groupes dans le cytoplasma (L. ODOR 1960). D'autres grains, plus petits, très nombreux, sont répartis dans tout le cytoplasme ; ce sont probablement des particules précipitées de la matrice cytoplasmique. Il existe en outre un constituant cytoplasmique, se colorant légèrement par le violet de crystal ; ce sont des plages plus denses que la matrice cytoplasmique environnante, moins homogènes, finement granulantes.

- Structures particulières

L. ODOR (1960) en distingue deux types. Le type le plus fréquent consiste en une formation semblable à une figure myélinique ; constituée de membranes s'arrangeant de façon concentrique séparées l'une de l'autre par un étroit espace. L'ensemble, deux membranes adjacentes séparées par l'espace intermédiaire, mesure environ 20 millimicrons.

Le deuxième type ressemble à un corps multi-vésiculaire, mais de taille, plus grande, constitué d'une vacuole, contenant un certain nombre d'inclusions membraneuses denses.

La présence de ces structures dans le cytoplasme de l'ovocyte est considérée comme un signe de dégénérescence de l'ovocyte (L. ODOR 1960). En effet, ces formations sont plus nombreuses dans les ovocytes franchement dégénératifs.

- Dans les follicules évolutifs

a) le noyau

- La membrane nucléaire ne présente pas de particularités
- le nucléole : sa taille augmente au fur et à mesure que l'ovocyte évolue ; pouvant avoir un diamètre de 8 à 10 microns. Sa structure n'a rien de particulier, la nucléonéma apparaissant épais, dense et granuleux.

b) Les organites cytoplasmiques

La disposition des organites cytoplasmiques diffère notablement. L'Appareil de Golgi et les corps multivésiculaires se répartissent de façon variable, en petits groupes, ces derniers ayant tendance à se localiser en périphérie de l'ovocyte.

- Les Mitochondries

Elles atteignent une taille d'environ 200 millimicrons.

- L'Appareil de Golgi

a tendance à s'étendre en périphérie du cytoplasme de l'ovocyte ; il se présente sous la forme de sacs, à membranes lisses, empilés les uns sur les autres, au nombre de 4 à 6, et de vésicules qui leur sont associées.

- L'ergastoplasme

est rarement visible.

- Les Ribosomes

la plupart des Ribosomes sont libres dans le cytoplasme et disposés sans aucun ordre.

- Les corps multivésiculaires

Ils sont peu nombreux, et ce sont ceux du deucième type qui sont proportionnellement les plus fréquents. S'y associent également des vésicules libres de la même taille que celles qui sont inclues dans les corps multivésiculaires : ainsi selon J.R. SOTELO et N.R. PORTER (1959) ces vésicules dériveraient des corps multivésiculaires par rupture de la membrane qui les entoure et le noyau central, plus dense, croitrait pour donner naissance à un nouveau corps multivésiculaire, pourvu d'une formation centrale dense.

Les régions du cytoplasme, situées entre les divers groupes d'organites, sont occupées par les fins granules de la matrice cytoplasmique.

- Dans les follicules mûrs, c'est à dire en période pré-ovulatoire la concentration périphérique des nombreux organites cytoplasmiques est plus importante.

1/ Les mitoéhondries

Elles sont petites (270 millimicrons environ); leur forme est régulière ; leur matrice plus dense qu'aux stades précédents.

2/ Les corps multivésiculaires

sont particulièrement nombreux, des deux types, cependant ceux contenant une formation centrale, dense, apparaissent plus fréquemment.

3/ L'appareil de Golgi

est très largement distribué en périphérie du cytoplasme de l'ovocyte, près de la membrane cellulaire. D'autre part il apparait lors de ce stade un complexe vésiculaire, formé de nombreuses et petites structures membraneuses, dont la taille varie de 15 à 150 millimicrons. Lorsque ce complexe apparait (L. ODOR 1960) l'appareil de Golgi a disparu ; la question restant posée de savoir si oui ou non ce complexe vésiculaire renferme les éléments de l'Appareil de Golgi. Le cytoplasme de l'ovocyte comporte de nombreuses structures membraneuses, ovoïdes, d'environ 180 millimicrons de diamètre, la plupart des membranes sont lisses, mais parfois certaines d'entre elles possèdent des granules à leur surface.

c) Ultrastructure des cellules folliculeuses

- Dans les follicules "quiescents" les ovaires de foetus de rattes, âgés de 19 jours (B. FLERKO - F. HADJOS et Gy. SETALO. 1967) contiennent des follicules "quiescents". L'ovocyte est très reconnaissable grâce à sa grande taille et à son cytoplasme, clair, pauvre en organites, La structure des cellules folliculeuses est la suivante :

Leur forme est irrégulière, avec des prolongements filiformes pouvant s'étendre de façon considérable autour de l'ovocyte.

- Le noyau est souvent segmenté (voir dessin 1)

- les mitochondries

elles sont de petite taille , en forme de bâtonnets.

Rapports entre l'ovocyte et les cellules folliculeuses ("nurse cells"). Embryon de ratte de I$^{9}$ jours.

Dessin d'après une microphotographie électronique ( x 13500).
tirée de B. FLERKO -F. HAJOS et Gy. SETALO (I967).

- le reticulum endoplasmique

est peu développé principalement de type granulaire

- l'appareil de Golgi

Il est bien visible et développé

- les ribosomes

Le cytoplasme contient des ribosomes libres

Les prolongements cellulaires contiennent des goutelettes ressemblant à des goutellettes lipidiques.

- Dans les follicules "évolutifs"

1/ Follicules primaires (comportant une couche unique de cellules folliculeuses cubiques)

Ces derniers sont visibles chez les animaux âgés de six jours : ainsi d'ailleurs que les follicules secondaires. Les cellules folliculeuses sont cubiques, elles sont étroitement reliées les unes aux autres. Le reticulum endoplasmique granulaire est bien développé, elles possèdent des mitochondries en forme de bâtonnet, pourvues de crêtes.

2/ Follicules secondaires et cavitaires

Au niveau des follicules secondaires et cavitaires les cellules folliculeuses sont cuboïdes, assemblées en plusieurs couches, étroitement attachées les unes aux autres. Cependant, au moment de la formation de l'antrum, des modifications se produisent dans les cellules de la granulosa. Les cellules de la couche pariétale sont étroitement liées les unes aux autres ; les cellules bordant la membrane basale sont cylindriques et leur forme devient plus irrégulière, au fur et à mesure que l'on se rapproche des bords de l'antrum. Au niveau du cumulus oophorus, les éléments cellulaires sont reliés les uns aux autres de façon beaucoup plus lâche ; les cellules sont arrondies, à une exception près : les cellules entourant l'ovocyte sont cylindriques. Ces cellules sont reliées les unes aux autres par l'intermédiaire de desmosomes, en général le long d'un court segment de leur surface, parfois la zone de jonction se fait sur une grande longueur de la surface cellulaire et dans ce cas, l'espace séparant les membranes est de l'ordre de 15 millimicrons. On peut observer, également au niveau de ces cellules, des desmosomes annulaires.

- le noyau

Il est arrondi ou légèrement irrégulier, de taille moyenne. Le rapport nucléo-plasmatique est relativement élevé, du fait de la petite taille des éléments cellulaires. Il est pourvu de nucléoles.

- les organites cytoplasmiques

- Les mitochondries

Elles sont nombreuses, régulièrement réparties dans le cytoplasme, sauf dans la région où se trouve l'Appareil de Golgi, elles y sont en effet peu nombreuses. Elles adoptent la forme d'une petite "saucisse", circulaires en section transversale. Elles peuvent atteindre une longueur de 3 à 4 microns. Leur structure interne est homogène comportant des crêtes régulièrement espacées.

- L'appareil de Golgi

Il est bien développé, occupant une grande partie du cytoplasme, constitué de plusieurs amas de lamelles disposées parallèlement, et pourvues de membranes lisses. Les Ribosomes sont peu nombreux.

- Le reticulum endoplasmique

Constitué d'un système de larges citernes. Les membranes sont granulaires, cependant les ribosomes ont une distribution beaucoup moins régulière que dans le reticulum des cellules secrétoires typiques (N. BJORKMAN, 1962). Les cellules de la granulosa sont très riches en A.R.N. et sauf au niveau de la région où se trouve l'Appareil de Golgi, le cytoplasme est bourré de Ribosomes, libres, répartis de façon irrégulière. Le cytoplasme comporte également des corps multivésiculaires, et des formations ressemblant à des lysosomes, en général peu nombreuses. Selon J. MARTINEK et R. KRAUS (1967), dans les cellules cylindriques entourant l'ovocyte, il existe une disposition polaire des organites ; Appareil de Golgi, reticulum endoplasmique, et amas de mitochondries ; la partie apicale de ces cellules contient presque toujours de très nombreux ribosomes. Les autres cellules du cumulus oophorus ne présentent pas cette orientation polaire des organites cytoplasmiques.

- Dans les follicules mûrs, c'est à dire en période préovulatoire, il existe une différence très nette entre les cellules

folliculeuses pariétales et les cellules folliculeuses du cumulus oophorus.

- Les cellules pariétales

Elles ne changent que peu, si ce n'est une augmentation des protusions cytoplasmiques et des desmosomes annulaires.

Les mitochondries deviennent plus ovoïdes et leur structure interne est partiellement tubulaire.

L'Appareil de Golgi ne présente pas de changements.

Le reticulum endoplasmique comporte des citernes, de plus petit diamètre et qui ont quelquefois une forme vésiculaire ou tubulaire. Les ribosomes libres sont moins nombreux.

Les formations ressemblant aux lysosomes, sont plus nombreuses et de taille légèrement plus grandes ; des centrioles sont parfois visibles.

A la partie basale de l'epithelium folliculaire, des inclusions lipidiques peuvent apparaitre, d'abord de forme irrégulière, puis arrondies, entourées d'une membrane.

- Les cellules du cumulus oophorus

Elles subissent des modifications qui apparaissent d'ordre dégénératif ; des saillies apparaissent à la surface du cytoplasme, déformant la cellule. Le noyau a une forme irrégulière et parfois il est parcouru par de profondes fissures, ce qui peut lui donner un aspect lobulé.

- Au stade post-ovulatoire

C'est à dire au niveau des cellules de la granulosa modifiées par transformation en cellules lutéiniques et au niveau des cellules accompagnant l'ovocyte dans la trompe.

- Les cellules pariétales

Elles deviennent luteinisées. Les mitochondries deviennent tubulaires. L'Appareil de Golgi diminue de taille. Le reticulum endoplasmique forme un fin réseau, vésiculaire ou tubulaire, agranulaire. Les ribosomes, libres, sont moins nombreux. De plus, le nombre des goutelettes lipidiques augmente de façon marquée.

- Les cellules entourant l'ovocyte

au niveau des cellules entourant l'ovocyte, et qui suivent sa migration dans la trompe, il se produit des modifications ; la surface cellulaire est

plus ou moins déformée par des protusions.

Le noyau devient irrégulier et souvent fissuré.

La membrane nucléaire présente des pores très larges.

Les mitochondries ne changent que peu ; il en est de même pour l'Appareil de Golgi.

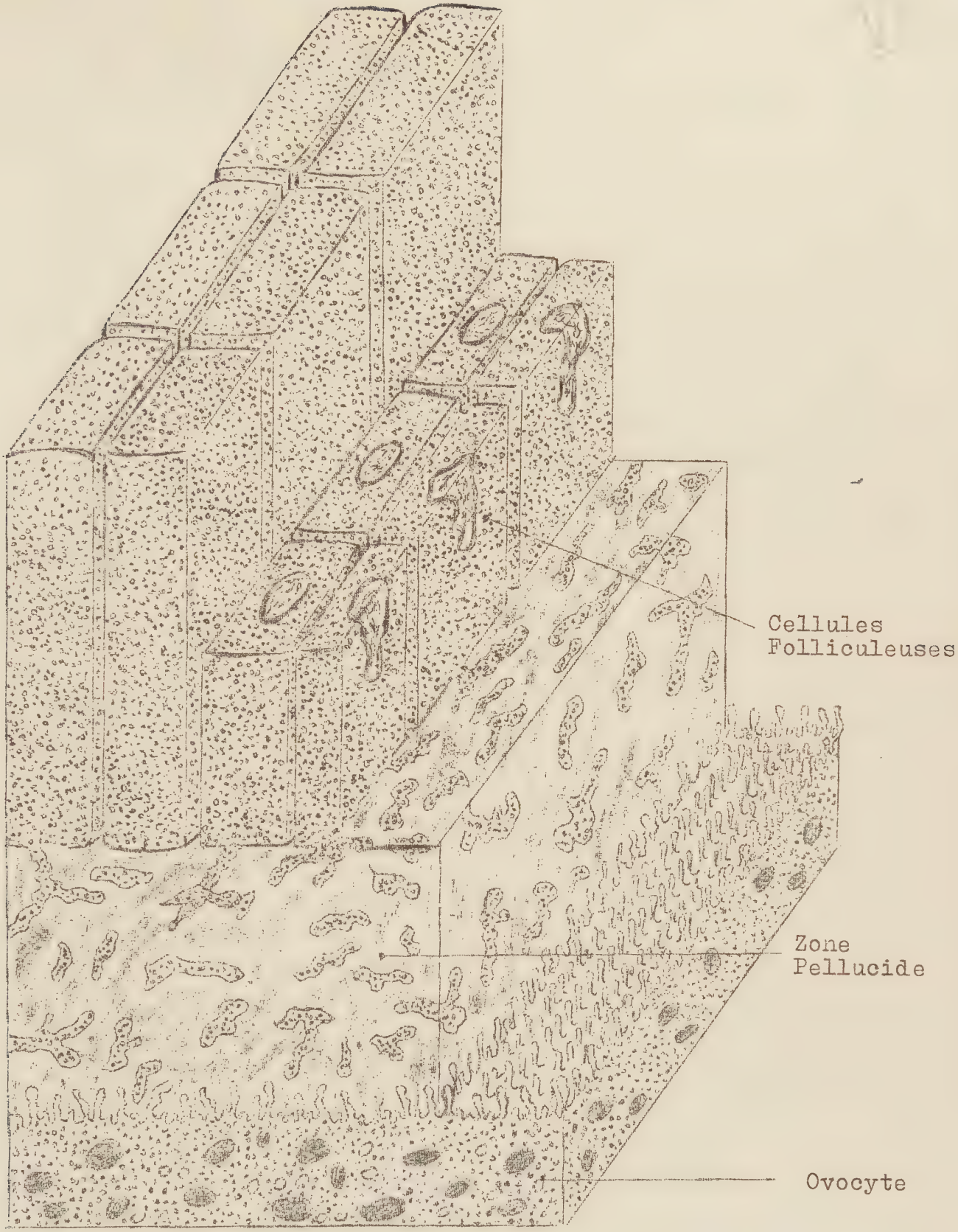
Les citernes du reticulum endoplasmique sont plus dilatées, demeurant de type granulaire. Les risosomes libres sont moins nombreux.

Les formations ressemblant aux lysosomes, et les corps multivésiculaires sont plus nombreux ; le cytoplasme comporte aussi des goutelettes lipidiques et des particules denses éparpillées. Les cellules de la granulosa (B. FLERKO - F. HADJOS et Gy. SETALO 1967) ont un reticulum endoplasmique pourvu de membranes granulaires, caractéristique des cellules productrices de protéines ; leur Appareil de Golgi est bien développé, ce qui peut indiquer une importante activité secrétoire, bien qu'il ne se forme pas de grains de secrétion. Quand ce cellules commencent à se transformer en cellules lutéiniques, deux faits importants se produisent ; d'une part la transformation des mitochondries, qui deviennent arrondies pourvues de crêtes tubulaires ; et d'autre part la transformation du reticulum endoplasmique granulaire en reticulum endoplasmique agranulaire ceci étant considéré par B. FLERKO - F. HADJOS et Gy. SETALO, comme une adaptation des cellules à la formation de stéroïdes.

d) Relations cellules folliculeuses-ovocyte : zone Pellucide. Au cours de l'évolution des follicules des interrélations [illegible] complexe, s'établissent entre l'ovocyte et les cellules folliculeuses l'entourant. Lors des stades les plus préoces, la couche unique de cellules folliculeuses, entourant l'ovocyte, est incomplète et souvent une partie de la membrane plasmique de l'ovocyte, est en contact direct avec celle d'un ovocyte adjacent.

- Dans des follicules "quiescents"

Lorsque ce follicule est complètement formé, les membranes cellulaires, de l'ovocyte et des cellules folliculeuses, sont en étroit contact, l'espace de séparation étant de l'ordre de 12,5 à 14 millimicrons.




Relations entre les cellules folliculeuses et l'ovocyte dans l'ovaire de la Ratte
(Dessin tiré de J.R.SOTELO et K.R.PORTER. 1959. Modifié)

- Dans des follicules "évolutifs"

1/ Follicules primaires (couche unique de cellules folliculeuses, cubiques).

A un stade très précoce, les cellules folliculeuses étant cubiques les membranes cellulaires de l'ovocyte et des cellules folliculeuses, restent en contact étroit en certaines régions, mais par contre sont séparées en d'autres régions, formant ainsi de petites poches (LL. FRANCHI, 1960). Au niveau de ces poches aparaissent des prolongements cytoplasmiques, issus des cellules folliculeuses ; au niveau de l'ovocyte, apparaissent en regard de ces derniers de courtes microvillosités, ces dernières s'allongeant et devenant cylindriques, au fur et à mesure que les espaces intercellulaires s'élargissent. Les prolongements des cellules folliculeuses, ont un diamètre supérieur à celui des microvillosités de l'ovocyte. La zone pellucide, commence donc à se former au stade le plus précoce du follicule primaire.

2/ Les follicules secondaires, tertiaires, cavitaires;

Les poches s'étalent latéralement ; il s'ensuit la formation d'un espace péri-ovocytaire, d'une épaisseur de 0,3 à 0,4 microns. Cet espace est continu, tout le long de la férence de l'ovocyte, sauf en quelques endroits, où il persiste des zones de contact étroit ;à ce niveau les membranes cellulaires et le cytoplasme adjacent présentent un degré d'osmiophilie particulièrement élevé. Les microvillosités ovulaires sont nombreuses, et une substance amorphe, de faible densité, remplit l'espace périovocytaire.

A un stade plus tardif, la largeur de la zone pellucide varie de 600 à 3600 millimicrons, cette largeur allant en croissant au fur et à mesure de la maturation du follicule. Il n'y a pas de structures canaliculaires au niveau de la zone pellucide.

- Les Microvillosités de l'ovocyte

sont plus nombreuses et peuvent s'étendre jusqu'à environ au tiers ou à la

moitié de la largeur de la zone pellucide. Leur diamètre est de 62 millimicrons, pouvant atteindre 80 millimicrons, de forme très régulière sur toute leur longueur, chaque membrane ayant une,épaisseur de 8 millimicrons. Elles sont dépourvues d'organites cytoplasmiques, cependant elles apparaissent souvent plus denses que la matrice cytoplasmique. La distribution de ces éléments n'est pas régulière à la surface de la cellule ; certaines sont isolées, d'autres au contraire s'assemblent pour former des sortes de "touffes" (J.R. SOTELO et K.R. PORTER 1959). Il existe dans certains ovocytes, et à leur face interne, une zone étroite large de 60 à 70 millimicrons, plus dense que la matrice cytoplasmique.

- Les prolongements des cellules folliculeuses ont un diamètre de 106 millimicrons, compris entre 100 et 200 millimicrons (L. ODOR. 1960) ; ils sont régulièrement distribués, pouvant parfois présenter des ramifications ; ils s'étendent de façon oblique, à travers la zone pellucide. Certains peuvent entrer en contact avec le cytoplasme de l'ovocyte, ou les microvillosités ovulaires ; la plupart cependant apparaissent libres au niveau de la zone pellucide ; ils contiennent souvent de petites granules qué l'on retrouve dans le cytoplasme des cellules folliculeuses.

- Dans les follicules "mûrs"

La première division de maturation s'achève avec l'émission du premier globule polaire ; apparait alors l'espace périvitellin, sans limite précise avec la substance de la zone pellucide, de largeur variable ; son contenu est moins dense que celui de la zone pellucide, il comporte des vésicules et des granules que l'on retrouve dans le cytoplasme de l'ovocyte. Les microvillosités se sont rétractées et il ne subsiste que quelques prolongements, plus ou moins saillants, contenant des éléments du cytoplasme de l'ovocyte. Leur répartition est très irrégulière, et il est fréquent de voir des régions importantes de la membrane cellulaire dépourvues de projections cytoplasmiques (J.R. SOTELO et K.R. PORTER. 1959).A un stade plus tardif, ces prolongements deviennent de plus en plus rares et la membrane plasmique de l'ovocyte est légèrement ondulée. Les prolongements des cellules folliculeuses se rétractent aussi, la plupart d'entre eux ayant une taille inférieure à ceux des stades précédents.

- Stade post-ovulatoire

Lorsque l'ovocyte a été expulsé et se trouve dans la trompe, la largeur de l'espace périvitellin varie de 900 millimicrons à 13 900 millimicrons, à l'endroit où se trouve le premier globule polaire. La largeur de la zone pellucide varie de 1300 à 4600 millimicrons, la valeur moyenne étant de 2800 millimicrons. La membrane plasmique de l'ovocyte est ondulée. Les prolongements des cellules folliculeuses s'étendent à une moins grande distance, à travers la zone pellucide ; de plus, en de nombreux endroits, apparait entre les cellules folliculeuses et la zone pellucide proprement dite, une substance peu dense, peu consistante. Les cellules folliculeuses accompagnant l'ovocyte lors de son expulsion, présentent des signes d'activité marquée, selon J. MARTINEK et R. KRAUS (1967) ; elles possèdent un reticulum, fait de sacs plus ou moins dilatés, granulaires, dont la taille varie de 0,08 à 0,2 microns, remplis d'une substance granulo-filamenteuse.

Des corps multivesiculaires, arrondis, de très grande taille (0,5 microns et plus) entourés d'une membrane lisse et contenant des microvesicules de taille à peu près égales ; cependant la membrane est souvent incomplète, ce qui fait que l'on trouve de nombreuses microvésicules dans le cytoplasme environnant. Puis plus tard ces formations constitueront des corps denses, à contenu très osmiophile et dont la structure habituelle a presque disparu.

Donc c'est au stade de follicule primaire qu'apparait la zone pellucide. Les rôles respectifs de l'ovocyte et des cellules folliculeuses, dans l'apparition de cette formation, sont discutés. Certains pensent qu'elle est produite à partir des ovocytes, d'autres que c'est un produit exclusif des cellules folliculeuses ; ce que semblent penser O. TRUJILLO-CENOZ et J.R. SOTELO (1959) qui ont fait des études sur la lapine, et admettent que la substance amorphe de la zone pellucide est élaborée dans le cytoplasme des cellules folliculeuses, pour être excrétée plus tard dans la couche zonale, la secrétion se faisant de façon continue et active, jusqu'à ce que la zone pellucide atteigne son épaisseur maxima, semblant diminuer après. Enfin, d'autres pensent que les cellules folli-

culeuses d'une part, et l'ovocyte d'autre part, auraient un rôle à jouer dans l'élaboration de cette substance. Un des arguments en faveur du rôle probablement joué par l'ovocyte, est le suivant (L. ODOR.1960) : le fait que l'Appareil de Golgi soit situé à proximité des lieux de formation de la zone pellucide, ce dernier ayant une activité secrétoire. Un autre problème reste posé ; existe-t-il une continuité directe entre les prolongements des cellules folliculeuses et le cytoplasme de l'ovocyte ? Il ne semble pas qu'il y en ait, en tout cas aucun auteur n'en a trouvé.

c) Ultrastructure des Thèques

1/ La thèque interne

La différenciation entre les deux types apparait au stade de follicule secondaire (S. SATO.1965). Les cellules de la thèque interne possèdent des organites cytoplasmiques caractéristiques de cellules productrices de stéroïdes.

Des mitochondries arrondies ou ovales, à structure membraneuse interne tubulaire.

Un reticulum endoplasmique agranulaire, bien développé, constitué de vésicules à surface lisse, alors que la forme granulaire n'est pas rencontrée.

De nombreuses goutelettes lipidiques dans le cytoplasme ainsi que quelques granules libres.

L'Appareil de Golgi est peu développé.

Ces éléments cellulaires peuvent être en contact direct avec la membrane basale, cependant ils en sont souvent séparés par des cellules de la thèque interne ayant l'aspect de cellules du tissu conjonctif commun.
D. FLERKO - F. HADJOS et Gy. SETALO en 1967, montrent que les organites de la stéroïdogenèse disparaissent des cellules de la thèque interne trois mois après hypophysectomie, alors que les éléments cellulaires de la thèque interne de rattes hypophysectomisées, réagissent rapidement à l'administration d'hormones gonadotrophiques (P.M.S. ou H.C.G.). Selon W. BELT (1962) la thèque interne apparait disposée en couches cellulaires concentriques, avec une membrane basale séparant les couches successives. Les capillaires de la thèque interne ont une membrane basale supplémentaire

Il y semble pris qu'il en soit en tout cas autre chose à [illegible].

Le phénomène de la [illegible] de l'avenir ?

Le développement [illegible] de la [illegible] de la [illegible] :

[illegible] [illegible] [illegible] [

adjacente aux cellules endothéliales.

2/ La thèque externe

La thèque externe forme une couche bien définie, autour des grands follicules, formée de plusieurs couches de cellules entre lesquelles se trouvent de nombreuses fibres de collagène. Il existe plusieurs variétés cellulaires (L. OSVALDO-DECIMA 1970 ; J.D. O'SHEA 1970).

- Le premier type

La proportion des éléments cellulaires de ce type est peu élevée. Ces cellules ne présentent pas de caractère spécialisé. Le cytoplasme contient quelques mitochondries, un reticulum endoplasmique granulaire, peu développé et des ribosomes libres assez nombreux.

- Le deuxième type

Les éléments cellulaires de ce type sont les plus nombreux : ce ne sont pas autre chose que des fibroblastes.

Le noyau est généralement régulier, mais parfois présente des irrégularités, il est ovale, allongé.

Le cytoplasme contient un reticulum endoplasmique, granulaire, très développé, formé de citernes largement dilatées, remplies d'une substance plus ou moins granuleuse et peu dense. L'Appareil de Golgi est bien développé ; le cytoplasme comporte également des ribosomes libres groupés en amas.

- Le troisième type

Les éléments cellulaires de ce type sont peu nombreux, et possèdent les caractères de cellules musculaires lisses (J.D. O'SHEA.1970). Ces cellules ne forment pas une couche continue, mais sont plus ou moins dispersées au sein des autres.

Le noyau est généralement régulier, mais parfois présente des irrégularités.

Une grande partie du cytoplasme contient des filaments longitudinaux, d'un diamètre de 7 à 8 millimicrons ; des corps denses sont associés à ces filaments et il existe des vésicules de micropinocytose, le long de la surface cellulaire. En certains endroits, notamment au niveau des

DESSIN d'après une microphotographie électronique, de la thèque externe ( x 21000 )
Tirée de J.D.O'SHEA (1970)

F: "Fibroblast like cell" (d'après J.D.O'SHEA. 1970)
M: "M Smooth muscular like cell"

A la partie droite du dessin, deux cellules ayant l'aspect de fibroblastes, avec Appareil de Golgi, citernes du réticulum endoplasmique dilatées et ribosomes libres dans le cytoplasme.

A la partie gauche, une cellule ressemblant à une cellules musculaire lisse contenant des groupes de filaments cytoplasmiques et des vésicules de micropinocytose.

pôles du noyau, on observe des citernes du reticulum endoplasmique granulaire, bien développées, ainsi que des mitochondries. D'autre part, l'Appareil de Golgi est modérément développé. Parfois une nette membrane entourant ces cellules est visible.

- Le quatrième type

Ce sont des cellules (J.D. O'SHEA.1970) dont la structure est intermédiaire entre celle des fibroblastes, et celles qui ont une structure analogue à celle des cellules musculaires lisses. Généralement elles présentent les caractères nucléaires et cytoplasmiques des fibroblastes, mais contiennent également des filaments longitudinaux, dans le cytoplasme. Parfois ces filaments, peu nombreux, se disposent en amas à la périphérie de la cellule ; dans d'autres cas ils forment des amas bien développés occupant une portion importante du cytoplasme. Cependant on ne retrouve pas toujours les corps denses et les vésicules de micropinocytose.

Dans les petits follicules, et les follicules en croissance, en particulier ceux qui présentent un petit antrum, la majorité des cellules de la thèque externe est constituée de fibroblastes, mais il existe de rares cellules ayant les caractères de cellules musculaires lisses, aussi bien que des cellules intermédiaires (J.D. O'SHEA.1970).

## III - Evolution des follicules

L'évolution des follicules peut se faire suivant deux modalités; d'une part, le processus de l'atresie et d'autre part, la transformation en corps jaune des follicules mûrs qui ont expulsé leur ovocyte.

### 1°. L'atresie folliculaire

ARON M. et ARON Cl. (1953) en donnent la définition suivante :

"Forme d'involution des follicules ovariens dès le stade cavitaire, à une étape plus ou moins avancée de leur croissance à partir de la prématurité sexuelle".

C'est un processus dégénératif des follicules, dégénérescence des follicules sans expulsion de l'ovocyte, affectant les follicules évolutifs mais également les follicules quiescents.

a) Modification des constituants folliculaires

- L'ovocyte

Au cours du processus de l'atresie, l'aspect du noyau de l'ovocyte change de façon remarquable ; il peut se produire une pycnose ou une fragmentation du noyau, associée à une fragmentation de la membrane nucléaire. Les éléments cytoplasmique dégénérent également ; dans le cytoplasme apparaissent des cristalloïdes, des vacuoles, l'ovocyte subissant une dégénérescence graisseuse. La membrane cellulaire se plissa et se rompt. La zone pellucide devient hyaline, mais cette dernière persiste encore longtemps et est la dernière à disparaître.

- Les cellules de la granulosa

Les divisions mitatiques cessent. Les cellules deviennent soudanophiles signe de la dégénérescence qui s'y produit. On observe une chromatolyse et une pychose des noyaux, ainsi qu'une hyalinisation du cytoplasme. Les cellules de la granulosa se détachent de la paroi du follicule et flottent librement dans l'antrum. La zone pellucide est envahie par des éléments cellulaires ; certains pensent qu'il s'agit des cellules de la granulosa modifiées, d'autres que ce sont des leucocytes ou des cellules du tissu conjonctif. Quoi qu'il en soit, leur fonction phagocytaire n'est pas clairement démontrée (D.L. INGRAM 1962.). Un signe d'utrésie précoce serait la formation d'une mambrane hyaline entre la membranegranulosa et la thèque interne.

Le processus d'atrésie frappe primitivement le contenu folliculaire, c'est à dire la granulosa et l'ovocyte (M. ARON et Cl. ARON 1953).

- Les cellules de la thèque interne

Il se produit une hypertrophie des cellules thécales, ces dernières pénétrant la membrane granulosa et envahissant la cavité folliculaire vidée de son contenu, l'ensemble se comblant et formant un module thécal plein. On peut également observer un processus de lutéinisation des constituants, de la granulosa, qui n'ont pas totalement dégénéré avant que les cellules de la thèque ne commencent à s'hypertrophier ; d'où la formation d'un corps jaune atrétique, correspondant à la lutéinisation d'un follicule qui a gardé son ovocyte.

b) Ultrastructure des follicules atrétiques

En 1967, G.H. VAZQUEZ-NIN et J.R. SOTELO, étudient l'ultrastructure des follicules atrétiques, chez des rattes, dont l'âge varie de six à soixante jours.

Il existe deux grands types d'altérations : d'une part, celles affectant les cellules folliculeuses, ainsi que les relations s'établissant entre ces dernières et l'ovocyte, et d'autre part celles affectant l'ovocyte.

1/ Altérations des cellules folliculeuses

C.H. VAZQUEZ-NIN et J.R. SOTELO, classent les follicules en folliçules pré-antriques et antriques.

a) Follicules pré-antriques

Au début de l'atrésie coexistent deux types de cellules folliculeuses :

Le type I, ce sont les cellules les plus nombreuses, de forme arrondie, présentent un aspect clair.

Le type II : ce sont au contraire des cellules allongées, dont les limites sont peu nettes, dont l'aspect est très sombre.

Cette différence est due à la quantité de ribosomes présente dans le cytoplasme ; au fur et à mesure que le processus dégénératif progresse, les éléments cellulaires voient le nombre de leurs ribosomes diminuer, d'où l'aspect plus clair.

Par contre, il ne semble pas y avoir d'altération très nettes des mitochondries et de l'Appareil de Golgi. Dans les deux types cellulaires peuvent se trouver des vacuoles très claires, de différentes tailles, réparties dans le cytoplasme. A la fin du processus apparaissent dans le cytoplasme,des goutelettes lipidiques et il se produit une pycnose nucléaire. D'autre part les prolongements de ces cellules sont très courts

b) Follicules antriques

Au début de l'atrésie deux modifications morphologiques importantes se produisent : d'une part une vacuolisation du cytoplasme, d'autre part une pycnose nucléaire.

- Vacuolisation du cytoplasme

En certaines zones du cytoplasme des cellules folliculeuses, il se produit une dilatation et un gonflement des vésicules et des citernes du reticulum endoplasmique ; puis petit à petit, tous les éléments du réticulum endoplasmique se gonflent et se dilatent, d'où l'aspect spongieux du cytoplasme (C.G. VAZQUEZ-NIN et J.R. SOTELO).

- Pycnose nucléaire

Le processus commence par l'apparition de zones homogènes, sombres, à proximité de la membrane nucléaire ; finalement le noyau devient, plus petit et très osmiophile.

Ainsi, lorsque la plupart des cellules de la paroi folliculaire ont dégénéré, l'ovocyte flotte librement dans le liquide folliculaire. Comme au niveau des follicules pré-antriques, le nombre et la taille des cellules folliculeuses décroissent. La membrane basale est épaissie et plus ou moins ondulée.

2/ Altérations de l'ovocyte

C.H. VAZQUEZ-NIN et J.R. SOTELO distinguent, d'une part, les altérations se produisant au niveau des composants cytoplasmiques de l'ovocyte, et, d'autre part, les anomalies de segmentation.

a) Au niveau des composants cytoplasmiques

Le processus de dégénérescence cytoplasmique, peut débuter soit au niveau de la matrice, soit au niveau des organites.

- Dégénérescence de la matrice cytoplasmique.

Ce phénomène est l'un des faits les plus marquants du processus atrésique dans l'ovocyte. Il s'agit d'une dégénérescence lamellaire de la matrice cytoplasmique, notamment à un âge de 14 à 30 jours ; chez les animaux plus âgés ce processus devient moins fréquent. Tout d'abord, apparaissent dans le cytoplasme de l'ovocyte, plusieurs zones dépourvues de vésicules et autres organites, homogènes, d'aspect ouateux. Puis apparaissent des fibrilles, à ce niveau tout d'abord désorganisées, qui se rassemblent pour former des lamelles, se disposant en groupes. Chaque lamelle a une

épaisseur de 50 millimicrons, et est séparée de sa voisine par un espace de 100 millimicrons ; chacune des lamelles est constituée d'un certain nombre de lignes denses, d'environ 4 millimicrons d'épaisseur, au sein d'un matériel amorphe. Cet ensemble peut donner un aspect "peigné" au cytoplasme de l'ovocyte. Il existe aussi des formations particulières ; ce sont des corps relativement denses, arrondis, entourés d'une membrane et constitués d'une substance filamenteuse et osmiophile ; ils sont généralement situés sous la membrane cellulaire.

- Altérations des organites

Les corps multi-vésiculaires se modifient : ils deviennent plus nombreux, s'assemblent en groupes ; la plupart d'entre eux sont entourés d'un nombre inhabituel de vésicules libres.

Les éléments du reticulum endoplasmique sont dilatés ; les vésicules et tubules s'assemblent en petits groupes, d'aspect plus ou moins sphérique, entourés de mitochondrites très denses.

Les microvillosités ovulaires s'altèrent. Elles sont moins nombreuses et beaucoup plus courtes ; en certaines zones de l'ovocyte elles disparaissent, par contre elles persistent en d'autres zones, sous la forme de très courtes microvillosités, ne pénétrant pas dans la zone pellucide. Les derniers stades de l'atrésie sont caractérisés par une perte de contact entre les cellules folliculeuses et l'ovocyte, qui apparait sombre ; les mitochondries de ce dernier sont très denses, et leur structure interne est complètement désorganisée ; d'autre part, les contours des vésicules et citernes, du reticulum endoplasmique du fait de leur aspect clair, apparaissent nettement dessinés.

La zone pellucide, bien que plissée, demeure encore longtemps après la dégénérescence des cellules folliculeuses et de l'ovocyte. Il existe aussi, en certaines régions du cytoplasme, dépourvues d'organites des éléments appelés "cristalloïdes" par G.H. VAZQUEZ-NIN et J.R. SOTELO, et se présentant sous la forme de réseaux de fibres denses.

b) Anomalies de segmentation

Ce processus se produit dans les ovaires des jeunes animaux.

L'aspect de ces ovocytes segmentés est assez particulier ; les segments sont de taille inégale, certains sont nucléés, ils sont tous dans ce cas de taille et d'aspect identiques et leur cytoplasme semble normal ; d'autres au contraire sont anucléés, et dans ce cas de taille et d'aspect très différents, et présentent un aspect franchement dégénératif. Certains segments peuvent contenir deux noyaux ; d'autres au contraire un seul noyau étranglé en son milieu.

Les mitochondries,sont sombres, parfois dépourvues de crêtes, et inégalement réparties. Les éléments du réticulum endoplasmique sont très irrégulièrement distribués ; ce sont soit des vésicules de forme et de taille variables, soit des citernes. Les éléments de l'Appareil de Golgi sont très peu nombreux, et en étroit contact avec l[illegible] éléments du réticulum endoplasmique. Il existe également des groupes de corps multivésiculaires et des vésicules libres.

Cette atrésie peut être associée à la formation de cystes, atteignant une taille considérable, limités par une seule couche de cellules épithéliales. la cavité étant remplie d'une substance liquide ; ceci est d'ailleurs fréquent quand l'ovaire est stimulé par un taux élevé de gonadotrophines. Parfois ces cystes peuvent devenir des cystes hémorragiques, le follicule devient brun foncé et se résorbe.

Les principales anomalies histochimiques sont une intense réaction de la phosphatase alcaline au niveau des cellules de la granulosa, une apparition de glycogène au niveau du cumulus oophorus ; une activité positive de l'acide ascorbique, des esterases, la présence de goutelettes soudonaphiles ; enfin une basophilie cytoplasmique très importante.

Chez la ratte, le nombre des ovocytes diminue nettement au cours de la vie (A.M. MANDL et M. SHELTON). L'équation suivante permet de calculer le nombre des ovocytes :

$$\text{Log } y = a - \text{Log } x$$

y représente le nombre des ovocytes, x l'âge du sujet mesuré en jours,
a et b sont deux constantes de valeur pratiquement identique.

Log y = 4,334 - 0,378 Log x selon H. ARAI - 1920

Log y = 4,561 - 0,476 Log x selon A.M. MANDL et S. ZUCKERMAN.1950

A la fin de la période néonatale, la destruction des ovocytes est très importante (BEAUMONT et A.M. MANOL.1962 ; P.L. KROHN.1967).

La population totale des cellules germinales atteint un maxima au dix huitième jour "post coïtum", diminuant ensuite nettement, pour atteindre le chiffre de 27 000 ovocytes deux jours après la naissance (voir courbe) (BEAUMONT ; A.M.MANDL ;P.L. KROHN).

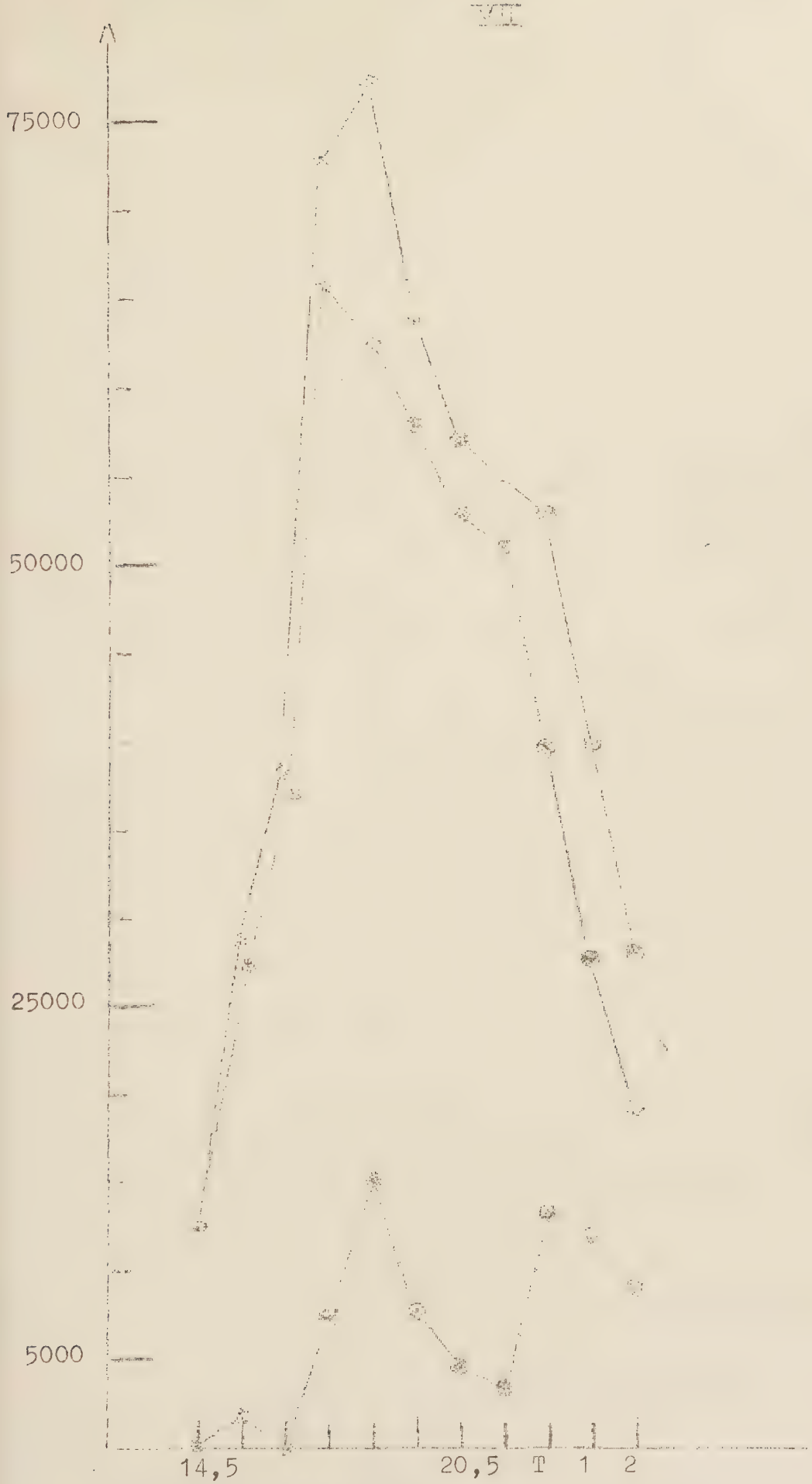
La population des eellules germinales normales atteint un pic au dix septième jour "post coïtum" pour atteindre la valeur de 19 000 deux jours après la naissance. Les différences observées en comparant les deux courbes de BEAUMONT et A.M. MANDL, permettent d'apprécier le nombre de cellules germinales qui ont dégénéré durant cette période.

La deuxième courbe de BEAUMONT et A.M. MANDL permet de mettre en évidence, lors de la phase foetale et neonatale, la quantité de cellules germinales qui ont dégénéré ; ces dernières étant classées en "divisions atrétiques" ; en cellules "Z" dont les filaments de chromatine se condensent et dont le cytoplasme devient eosinophile ; et les cellules germinales qui dégénérent aux stades de diplotène et dyctiac

La population des cellules germinales normale est de 19 000 deux jours après la naissance. Le nombre d'ovocytes diminue ensuite nettement lors de la vie, passant de 5 500 à l'âge de 100 jours, à 1 500 à l'âge de 380 jours, enfin à 1 000 à l'âge de 1 000 jours (P.L. KROHN 1967).

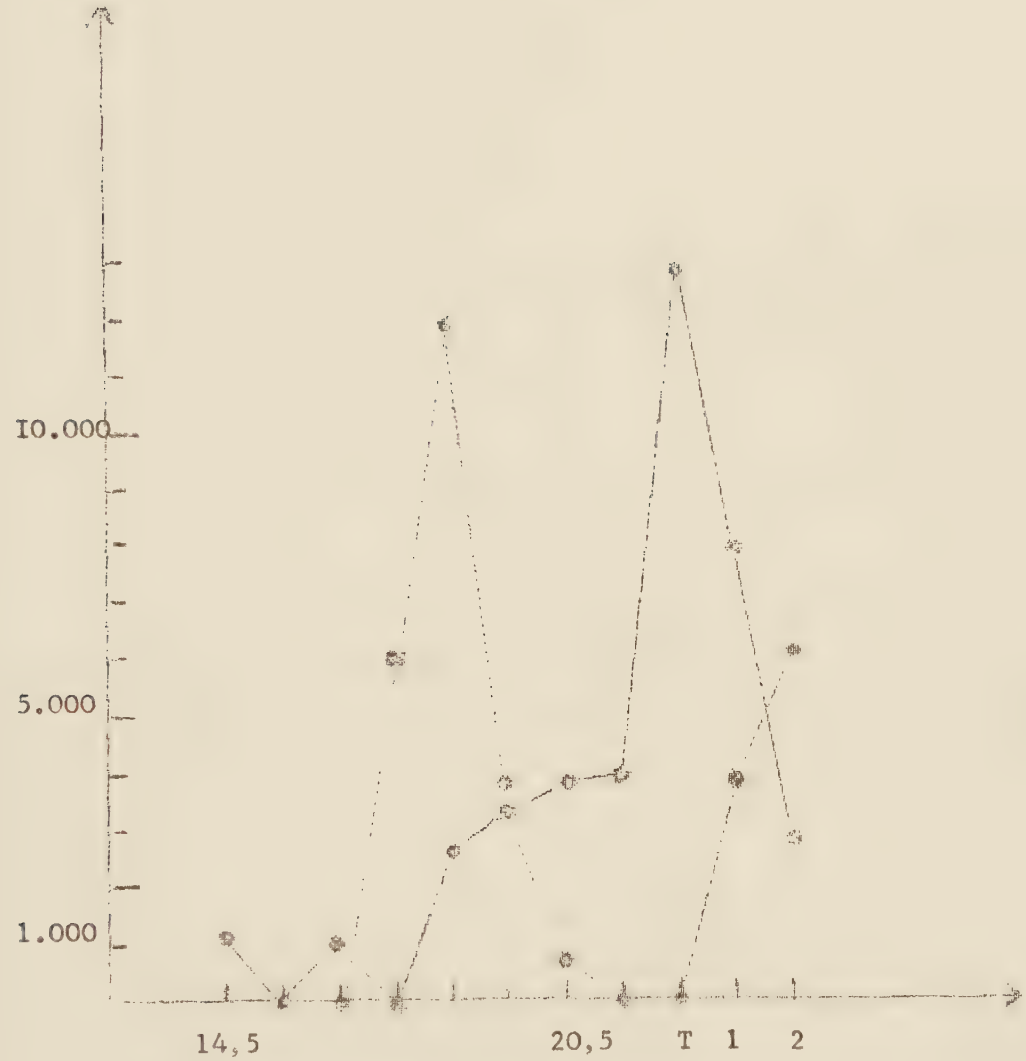
Parmi les nombreux facteurs susceptibles de provoquer une atrésie folliculaire l'on peut citer :

- la gestation et la lactation
- l'hypophysectomie. Chez l'animal hypophysectomisé le nombre de follicules atrétiques est supérieur à celui de l'animal normal
- l'alimentation et les désordres vitaminiques ; en particulier un traitement par la vitamine E; une déficience en vitamine B.




Population totale des cellules germinales lors des différents stades du developpement foetal et néonatal
( Courbe tirée de BEAUMONT.H.M. et MANDL.A.M.1962)

——— :Nombre total
– – – :Nombre normal
——— :Nombre des cellules en dégénerescence




Population des cellules germinales en dégénerescence aux différents stades du développement foetal et néonatal.

en abcisses : âge du sujet (T.: terme)

en ordonnées : nombre des cellules germinales

——— : cellules pycnotiques

– – – : divisions atrétiques

——— : cellules "Z"

– · – · – : cellules dégénérant aux stades diplotène et dictyae.

COURBE, tirée de BEAUMONT. H.M. et MANDL. A.M. (1962).

- l'ischémie
- les radiations ionisantes.

Les follicules primordiaux sont très sensibles aux rayons X, des doses de 200 à 300 rads peuvent les détruire en 24 heures ; chez la Ratte immature des doses inférieures ont le même effet. Par contre, les follicules évolutifs semblent moins sensibles, en effet des doses de 4 000 rads sont nécessaires. La sensibilité des cellules germinales aux rayons X est maximale in utero (P.L. KOHN.1967).

Chez la Ratte la proportion d'ovocytes primordiaux, considérés comme atrétiques, par rapport à la population totale, varie de 60 à 70 %.

2/ Les corps jaunes

Modalité évolutive des follicules mûrs qui ont expulsé leur ovocyte.
Les cellules de la granulosa du follicule rompu, vont se transformer ; elles grossissent, deviennent polygonales, avec un noyau vésiculeux et des vacuoles lipidiques dans le cytoplasme, et prennent le nom de cellules lutéiniques ou encore cellules de la granulosa lutéinisées ; les cellules de la thèque interne pénètrent avec leurs capillaires, dans les cellules de la granulosa lutéinisée.

E.S. PEDERSON (1951) décrit l'histogénèse du tissu lutéinique chez la ratte albinos. Quatre heures après l'ovulation, se produit un début d'organisation ; effondrement de la paroi folliculaire, précoce hypertrophie, hyperplasie et lutéinisation des cellules de la thèque interne ; à ce stade aucun signe de métamorphose n'est présent dans la granulosa. En fait, les couches les plus internes présentent des noyaux pycnotiques et apparaissent en dégénérescence ; la vascularisation se développe cependant rapidement, ce qui évite une perte trop grande des cellules de la granulosa. La majorité d'entre elles semble acquérir des relations plus étroites avec l'envahissement sanguin, et six à huit heures après l'ovulation la métamorphose de la granulosa est observée ; la lutéinisation progresse alors de façon centripète, de façon parallèle, et étroitement liée à la

vascularisation. Les fibroblastes atteignent la cavité centrale vers la 20-22è heure et se répartissent dans toutes les direotions ; cette dernière est peu à peu envahie par une prolifération de fibroblastes et de capillaires, l'antrum s'affaissant et étant rempli de tissu conjonctif jeune. E.S. PEDERSON put observer des corps jaunes de 50 à 54 heures ayant achevé leur complet développement.

a) Microscopie électronique

Les cellules lutéiniques ont tous les caractères de cellules secrétant des stéroïdes ; grand nombre de goutelettes lipidiques, mitochondries de grande taille, reticulum endoplasmique agranulaire très développé. Les auteurs suivants se sont attachés à décrire ces cellules en microscopie électronique : J.D. LEVER.1956 ; A.C. ENDERS.1962 ; S.SATO.1965 ; S.SATO et K. KUROSUMI.1965 ; G.COHERE, C. ERECHENMACHER et G. MAYER.1967.

1/ La membrane cellulaire

La cellule lutéinique comporte, en regard des capillaires, des expansions de la membrane cellulaire et du cytoplasme, constituant ainsi des sortes de franges. Parfois des mitochondries se trouvent à la base de ces protusions, généralement elles ne comportent que la matrice cytoplasmique, granuleuse, et le reticulum endoplasmique (A.G.ENDERS.1962). Par contre, aux endroits où une cellule est en contact étroit avec des cellules adjacentes, la limite cellulaire est lisse et l'espace intercellulaire est étroit et

uniforme. D'autre part, S.SATO et K. KUROSUMI n'ont pas observé d'épaississements de la membrane cellulaire semblables à des desmosomes; au niveau du corps jaune de la ratte, on observe des discontinuités entre les cellules endothéliales des capillaires.

2/ Le noyau

Il est généralement gros, plus ou moins arrondi et pourvu d'un ou plusieurs nucléoles. La membrane nucléaire est plus ou moins ondulée et pourvue de petits pores.

3/ Les Organites cytoplasmiques

- Le Réticulum endoplasmique

Il est très développé ; il a tendance à être de type agranulaire au niveau de la périphérie cellulaire, et de type granulaire, dans la partie la plus profonde ; il peut être de type vésiculaire et tubulaire, le diamètre des tubules atteignant la taille de 35 à 65 millimicrons (A.C. ENDERS). Parfois un certain nombre d'éléments du reticulum endoplasmique granulaire peuvent s'assembler selon une disposition lamellaire, certaines citernes du reticulum granulaire se continuant avec celles du type agranulaire. Des ribosomes libres sont éparpillés dans la matrice cytoplasmique. A.C. ENDERS distingue deux sortes de cellules suivant l'aspect du reticulum endoplasmique ; les cellules à cytoplasme dense, tendant à avoir un reticulum endoplasmique tubulaire, de diamètre irrégulier et à forme plus ou moins tortueuse ; les cellules à cytoplasme moins dense, ayant un reticulum endoplasmique de type plutôt vesiculaire ; les ribosomes sont beaucoup plus abondants.

- L'Appareil de Golgi

Ses constituants sont relativement bien développés, et répartis dans le cytoplasme péri-nucléaire ; il comporte des membranes à disposition lamellaire, auxquelles sont associées des vésicules, pouvant contenir un matériel amorphe, de densité élevée; certaines citernes sont parfois distendues et présentent donc un aspect vacuolaire.

- Les Inclusions

Elles sont de deux sortes ; des goutelettes lipidiques et des granules de taille de densité et de structure variables.

Les goutelettes lipidiques atteignent 1 micron de diamètre, généralement arrondies, parfois à limite irrégulière. L'intérieur est homogène et modérément dense. Elles peuvent être limitées par une membrane délicate, fréquemment invisible.

Les granules denses sont de taille et d'apparence très variables.

Les plus petits ont undiamètre d'environ 150 millimicrons ; ils sont arrondis ou se présentent sous la forme de batonnets, ils sont souvent situés près de l'Appareil de Golgi. Ils sont limités par une membrane, et il existe un espace étroit, clair, entre la membrane et la substance interne de forte densité.

Les plus grands ont 1 micron ou plus de diamètre, limités eux aussi par une membrane distincte, cependant l'espace clair situé sous la membrane est plus étroit, la densité de la substance interne étant très marquée. Ce granule contient habituellement des taches plus claires de formes variées, rondes ou plus ou moins irrégulières. La morphologie générale de ces granules permet de penser qu'il s'agit de lysosomes ; et il est vraisemblable que les granules les plus petits représentant un stade d'évolution plus précoce, puissent naître à partir de l'Appareil de Golgi (S.SATO et K.KUROSUMI).

- Les Mitochondries

Ces dernières ont une morphologie caractéristique : en forme de bâtonnet, pourvues de crêtes villiformes. Leur matrice est [illegible] dans la plupart des cas un peu plus sombre que la matrice cytoplasmique. Un certain nombre de mitochondries ont une taille inhabituelle : de forme arrondie ou grossièrement ovalaire, pourvues de crêtes villiformes à matrice relativement dense, atteignant selon A. G. ENDERS 500 à 800 millimicrons de diamètre ; il existe parfois des amas de mitochondries, de forme discoïde, quelques unes de celles-ci ayant une surface convexe et une surface concave, en forme de coupe. Des relations très étroites s'établissent entre ces grandes mitochondries et les éléments tubulaires ou vésiculaires du reticulum endoplasmique agranulaire (A.C.ENDERS).

Les granules intramitochondriaux sont remarquablement nombreux et assemblés souvent en amas, à l'intérieur des énormes mitochondries. On peut souvent observer, dans la matrice mitochondriale, des formations globuleuses, arrondies, d'environ 150 à 400 millimicrons de diamètre, formées d'une substance homogène, de forte densité, non limitées par une membrane ; quelques mitochondries peuvent contenir plusieurs globules.

Selon S.SATO et K.KUROSUMI (1965) sur des coupes où les lipides ont été extraits lors de la préparation, les goutelettes lipidiques apparaissent comme des vacuoles irrégulières. Les mitochondries peuvent également contenir des vacuoles irrégulièrement collabées, l'intérieur étant transparent, optiquement vide ; dans ce dernier cas une membrane entoure de telles

vacuoles. Par conséquent les vacuoles intramitochondriales peuvent être considérées comme étant le résultat d'une extraction artificielle de toute, ou d'une partie de la substance des globules intramitochondriaux, qui ainsi auraient, peut être contenus des lipides. Ainsi selon S. SATO et K.KUROSUMI, la présence de goutelettes lipidiques, dans les mitochondries, indique une participation des mitochondries, active et directe, à la biosynthèse des hormones stéroïdiennes.

b) Vascularisation

La vascularisation de l'ovaire, notamment au niveau des follicules, est sujette à des changements de structure lors du cycle : les capillaires du stroma ovarien viennent s'associer au hasard avec les follicules primordiaux. Dans les follicules en croissance et mûrs, les capillaires se disposent de la façon suivante (D.L. BASSET) : une courone interne de capillaires dans la thèque interne, approvisionnée par des branches issues d'une couronne externe d'artérioles et de veinules, localisées à la thèque externe. Cette architecture demeure inchangée jusqu'à ce que l'ovulation se produise ; peu après la rupture du follicule, la granulosa est envahie par des pousses vasculaires en de nombreux point , provenant de la courone interne des capillaires, ceux-ci s'étendant et croissant dans le corps jaune, prenant une morphologie de capillaires sinusoïdes typiques. Des macrophages intravasculaires, ressemblant aux cellules de Kupfer du foie, apparaissent dans ces sinusoïdes, se formant par pousses vasculaires à partir de l'endothélium des parois des capillaires préexistants.

c) Architecture vasculaire lors du développement du corps jaune

16 heures après le début du rût, l'invasion vasculaire de la granulosa progresse rapidement et la lutéinisation des couches les plus externes de la granulosa est commencée.

24 heures après, la granulosa est envahie par des pousses vasculaires, avec formation de sinusoïdes anastomosées, aux trois quarts de sa largeur environ ; l'antrum est encore grand, et la lutéinisation des couches les plus externes de la granulosa est encore plus avancée ; les couches internes sont aplaties contre l'antrum.

48 heures après, la lutéinisation a progressé, de telle façon que l'antrum est presque complètement oblitéré, seul persiste un noyau central de cellules de la granulosa, dégénérées. Des sinusoïdes de grand calibre, à orientation radiaire, traversent la granulosa lutéinisée, à partir de la couronne vasculaire, la plus interne vers le noyau central. Certains se transforment en artérioles, d'autres en veinules ; les sinusoïdes bordant le noyau central forment une rosette centrale de sinus veineux qui se drainent vers la surface par l'intermédiaire des veinules.

72 heures après, le corps jaune est complètement lutéinisé et richement approvisionné par un réseau dense de capillaires sinusoïdes ; la différenciation d'artérioles et de veinules à partir de certains grands sinusoïdes radiaires se poursuit.

96 heures après, l'architecture vasculaire du corps jaune est complètement développée et présente un très riche réseau de capillaires sinusoïdes, approvisionné par des afférents artériels et drainé par de nombreuses veinules superficielles. Habituellement une seule veinule draine la partie centrale du corps jaune, ce vaisseau éfférent provenant du plexus central des sinus veineux, et se dirige vers la thèque externe où il rejoint d'autres veines.

Durant les stades de régression :
Le corps jaune conserve son architecture vasculaire caractéristique, bien qu'elle commence progressivement à involuer. Alors que la plupart des sinusoïdes commencent apparemment à régresser, les artérioles et veinules radiaires persistent, quoique sous une forme quelque peu déformée, jusqu'à ce que le corps jaune ait presque complètement disparu. Durant les stades précoces de la régression la plupart des capillaires commencent à se fermer et à se résorber aux endroits où les cellules lutéiniques subissent une vacuolisation. Une certaine irrégularité, aux endroits où se produit la dégénérescence permet de comprendre pourquoi l'architecture vasculaire est préservée lors des stades avancés de l'involution du corps jaune.

## IV - LE TISSU INTERSTITIEL

Tissu formé de grandes cellules, polyédriques, à noyau polychromatique et donc le cytoplasme contient des goutelettes lipidiques. Le terme de glande interstitielle est appliqué par BOUIN en 1942, ces cellules changeant de taille et de structure cytologique, au cours de la gravidité et durant le cycle. Ce tissu est très développé chez les rongeurs.

Chez la ratte, le tissu interstitiel a une double origine (R.H. ALDEN.1941 ; A.B. DAWSON.1949 ; E.G. RENNELS.1951). Le tissu interstitiel primaire apparaît en plages irégulières entre les follicules, au cours de la période infantile, c'est à dire de la naissance au dixième/douzième jour de la vie post-natale. Au cours de la période juvénile précoce, c'est à dire du dixième/douzième jour de la vie post-natale au dix huitième/ vingtième jour, ce tissu occupe la plus grande partie des espaces interfoliculaires. Au cours de la période juvénile tardive ou encore prépubère, c'est à dire du vingtième jour de la vie post-natale jusqu'à l'apparition de la première ovulation, des changements régressifs se produisent au niveau des follicules et il se forme le tissu interstitiel secondaire, formation de corps atrétiques, provenant des cellules transformées de la thèque interne. Donc le tissu interstitiel primaire est probablement issu des cellules de la granulosa ; le tissu interstitiel secondaire provient de la thèque interne des follicules atrétiques. A partir du dix-huitième jour de la vie post-natale, le tissu interstitiel primaire devient moins évident et est progressivement remplacé par de grandes plages de tissu interstitiel secondaire.

Structure en microscopie électronique

Les cellules de la glande interstitielle, sont polyédriques, elles ont un noyau irrégulier. Le reticulum endoplasmique agranulaire est bien développé ; les mitochondries sont de taille assez irrégulière, pourvues de crêtes. L'Appareil de Golgi est bien développé ; il existe de plus des goutelettes lipidiques, ayant un diamètre de 1,5 microns environ, et également des lysosomes de taille variable. Les capillaires sanguins du tissu interstitiel sont entourés d'un espace péri-vasculaire et les

cellules sont pourvues de quelques pores. Les cellules interstitielles ne sont pas en contact immédiat, avec les cellules endothéliales des capillaires; il existe un espace irrégulier, péri-vasculaire, sub-endothélial, semblable à celui que l'on trouve dans de nombreux organes endocrines.

## V. MODIFICATIONS OVARIENNES AU COURS DU CYCLE OESTRAL. RENOUVELLEMENT DES GENERATIONS CELLULAIRES : INDEX MITOTIQUE

F.D. BERTALANFFY et C. IAU en 1963, en employant la technique à la colchicine, bloquant les mitoses en métaphase, étudient l'index mitotique et le "Turn Over" cellulaire des principaux constituants del'ovaire durant le cycle oestral.

### 1/ L'Epithelium de revêtement

Formé d'une couche unique de cellules recouvrant la surface de l'ovaire, la hauteur des cellules varie suivant les zones de tension : cuboïde à cylindrique en certaines régions, il est formé de cellules plus aplaties, presque pavimenteuses, dans les régions de l'ovaire où se trouvent les grands follicules mûrs ainsi qu'au voisinage des corps jaunes récemment formés, qui ont tendance à former des protusions à la surface de l'ovaire. Il ne subit pas de changements cycliques. Les mitoses se produisent n'importe où/ Durant un cycle oestral, près de 14 % des cellules entrent en division : le "Turn Over" de l'épithélium de surface est donc de 33 jours.

### 2/ Les Follicules ovariens

Ils peuvent être classés de la façon suivante :

Les petits follicules, jusqu'à 200 microns de diamètre, constitués d'un ovocyte entouré de deux à six couches de cellules folliculeuses, les plus grands d'entre eux étant entourés d'une thèque peu épaisse.

Des follicules, allant d'un diamètre de 200 à 600 microns, la plupart d'entre eux contenant un antrum rempli de liquide folliculaire et des thèques externe et interne bien différenciées.

Enfin des follicules mûrs, ou presque mûrs de diamètre supérieur à 600 microns ; ces derniers occupent l'épaisseur du cortex et ont tendance à faire hernie à la surface de l'ovaire ; l'ovocyte est situé à un pôle et l'antrum limité par quatre à six couches de cellules folliculeuses aplaties ; les thèques externe et interne sont bien développées.

La présence dans l'ovaire, à un moment donné, de tel ou tel type de follicule, constitue une indication précieuse quant à la détermination de la phase du cycle oestral ; ainsi :

Durant le proestrus
L'ovaire contient de nombreux follicules en croissance et plusieurs follicules mûrs ou en voie de maturation.

Pendant la 1ère phase de l'oestrum (oestrus I)
le nombre de follicules mûrs augmente, ces derniers se rompant lors de l'ovulation.

Durant la 2è phase de l'oestrus (oestrus II)
c'est à dire après l'ovulation, les follicules mûrs sont absents de l'ovaire.

Durant le metoestrus
le fait caractéristique est la présence de nombreux petits follicules en croissance.

Durant le dioestrus
ces follicules vont se développer rapidement lors de ce stade, l'ovaire contenant plusieurs grands follicules qui continuent leur croissance.

Durant tous les stades de la maturation folliculaire, les mitoses sont nombreuses dans les cellules de la granulosa et les cellules thécales, ces divisions se faisant suivant une distribution irrégulière. Les taux de division cellulaire étant déterminés, dans les cellules thécales et les cellules de la granulosa, F.D. BERTALANFFY et C. IAU aboutissent aux résultats suivants :

Dans les cellules de la granulosa, l'activité mitotique est presque constante, dans les petits follicules ; dans les follicules en

croissance, il y a deux pics d'activité ; un durant l'oestrus et l'autre durant la première partie du dioestrus (Dioestrus I) ; c'est durant le metoestrus que les cellules de la granulosa des grands follicules se divisent le plus activement.

Dans les cellules thécales, des petits follicules, le maximum d'activité se produit durant la première partie de l'oestrus (Oestrus I). L'activité mitotique de la thèque (thèque externe et thèque interne), des follicules en croissance, est la plus élevée, durant la première partie de l'oestrus (Oestrus I),et demeure élevée durant le metoestrus et la première partie du dioestrus (Dioestrus I). Enfin dans les follicules les plus grands, l'activité est élevée, durant le metoestrus et le dioestrus I, surtout dans la thèque interne. En 1969, P. TUCHIMMA et M. NIEMI étudient le renouvellement cellulaire des follicules ovariens. Ces auteurs, utilisant la technique à la thymidine tritiée sur des follicules en croissance (diamètre supérieur à 200 microns) au cours du dioestrus et de l'oestrus, arrivent à des résultats comparables.

3/ Les corps jaunes

L'ovulation se produit à peu près au milieu de l'oestrus ; les follicules mûrs qui se sont rompus, se transforment en corps jaunes, et ces derniers ne disparaissent pas durant le même cycle, mais persistent pendant plusieurs cycles successifs. Ainsi, à un moment donné, il existe dans l'ovaire plusieurs générations de corps jaunes. Pour en étudier l'activit mitotique, les corps jaunes sont classés de la façon suivante :

La première génération est constituée de corps jaunes nouvellement formés durant un cycle.

La deuxième génération de corps jaunes qui se sont formés durant le cycle précédent et qui présentent un degré d'activité mitotique.

La troisième génération est formée de corps jaunes en dégénérescence, ne présentant aucune activité mitotique ; cette génération ayant par conséquent une durée supérieure à deux cycles.

Rappelons que, après l'ovulation le corps jaune commence à se former durant le metoestrus et s'accroit très rapidement, pendant le

dioestrus, ses cellules s'hypertrophiant et se transformant en cellules lutéiniques typiques. Durant le proestrus suivant et les phases suivantes d'un autre cycle oestral, la morphologie des corps jaunes ne varie que peu. Cette génération devient la deuxième génération alors que l'ovulation se produit durant le cycle oestral suivant, entrainant la formation d'une nouvelle génération de corps jaunes. Cette deuxième génération commence à régresser de façon progressive ; transformation vacuolaire des cellules lutéiniques et infiltration progressive par des fibroblastes, ces corps jaunes présentent encore une activité mitotique modérée. A la suite d'une nouvelle ovulation, durant le cycle suivant, ces corps jaunes forment la troisième génération ; ici toute activité mitotique cesse et leurs constituants dégénèrent rapidement donnant lieu à un remplacement par du tissu fibreux. Ainsi, il est aisément possible d'identifier dans l'ovaire ces trois générations de corps jaunes.

L'activité mitotique maximale se produit pendant le dioestrus, dans la première génération de corps jaunes ; alors que dans la deuxième génération les écarts sont moins marqués, durant toutes les phases du cycle. Il n'y a jamais de mitoses dans les corps jaunes de la troisième génération. Dans les corps jaunes de la première génération, pendant toute la durée du cycle oestral, 86,9 % de cellules lutéiniques nouvelles sont formées par mitose ; alors que dans la deuxième génération ce chiffre tombe à 30,6 % et qu'il n'y a plus de formation de nouvelles cellules lutéiniques dans la troisième génération. Ainsi durant deux cycles consécutifs, la population cellulaire de chaque corps jaune augmente de 117 % ou encore la population cellulaire du corps jaune double en moins de 7,6 jours.

4. Changements de structure au niveau du tissu conjonctif de l'ovaire

Le stroma ovarien est constitué de cellules de type fibroblastiques, allongées, fusiformes, de fibres de collagène et de vaisseaux sanguins et lymphatiques ; dans la zone toute superficielle de la corticale le stroma tend à se densifier légèrement. La zone médullaire est formée de tissu conjonctif assez lâche, comportant de gros troncs vasculaires. Le

stroma est soumis à des variations cycliques lors des différentes phases du cycle oestral (CATCHPOLE et GERSH.1949). En utilisant la méthode de coloration vitale au Bleu Evans et la coloration des glycoprotéines par le PAS, il est possible de suivre les changements se produisant au niveau de la réactivité des glycoprotéines durant le cycle oestral. La coloration vitale est retrouvée dans la substance fondamentale, le liquide folliculaire, la zone pellucide, endroits contenant des glycoprotéines. Le fait le plus remarquable est l'augmentation de la coloration du tissu conjonctif ovarien lors du proestrus et de l'oestrus. Cette augmentation de l'intensité de la coloration des glycoprotéines est plus prononcée après stimulation par les gonadotrophines Cela est dû à la capacité du tissu conjonctif à se dépolymériser ; dépolymérisation de la substance fondamentale passant de l'état de gel assez rigide à un état plus fluide ; les enzymes qui interviennent dans ce phénomène sont de la classe des mucinases et seraient secrétées et libérées à partir des fibroblastes.

## B. LA TROMPE

Il s'agit d'un canal, de calibre irrégulier, présentant une succession de dilatations et de rétrécissements. Il est très contourné sur lui-même, son trajet décrivant ainsi une série de huit coudures (E.C.GREENE 1963, voir schéma).

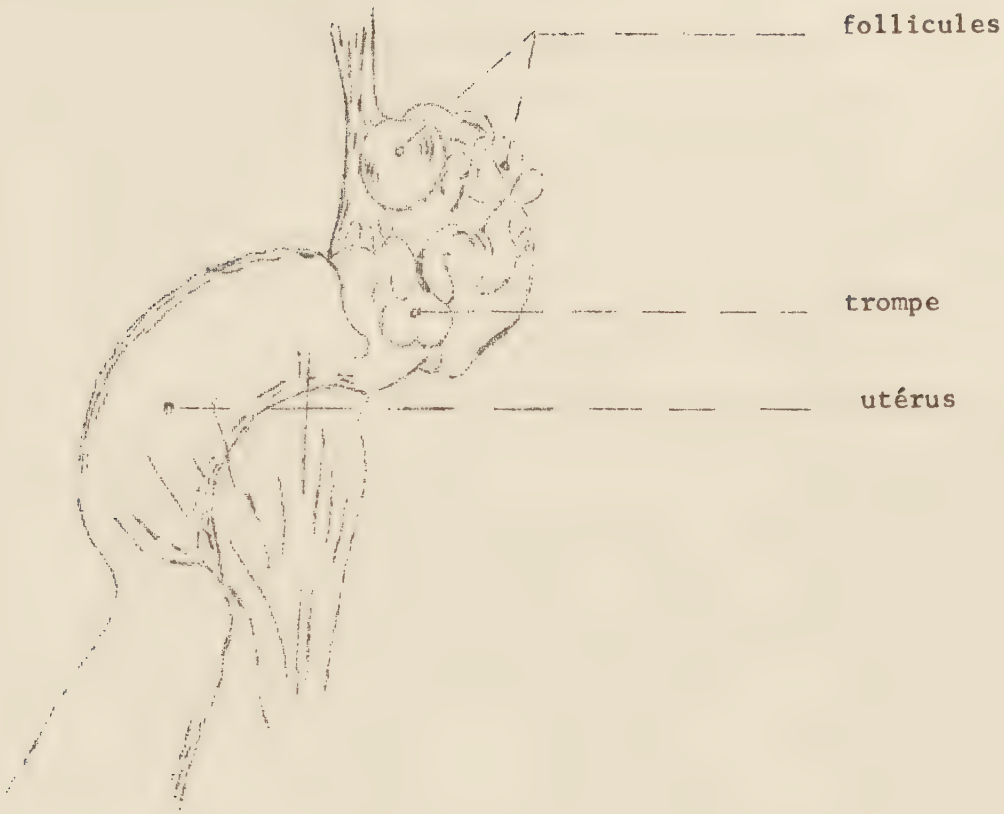
KELLOG (1941) la divise en divers segments :

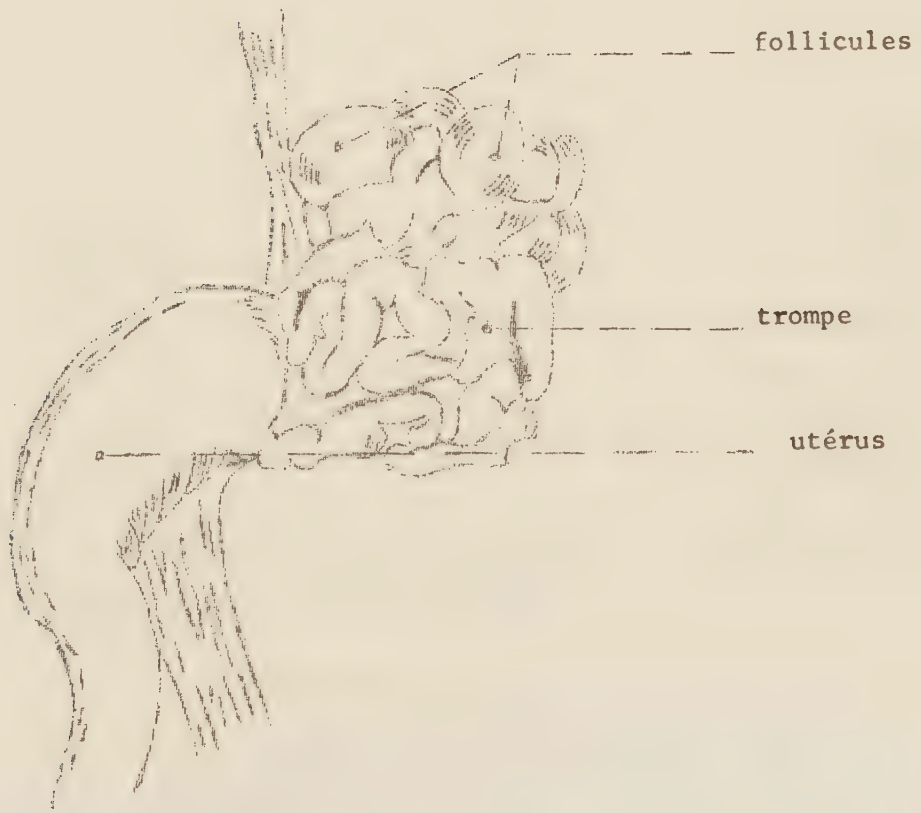
- l'ampoule céphalique, comprenant la marge de l'infundibulum et l'infundibulum
- l'ampoule caudale
- l'Isthme céphalique
- le canal de l'Isthme (Isthme caudal)
- enfin, la portion Intramurale, dans la paroi utérine

Nous allons voir la constitution histologique de ces divers segments, ainsi que la structure de la jonction tubo-utérine (S.J. HOOK et E.S.E. HAFEZ.1968).

### I. CONSTITUTION HISTOLOGIQUE

La paroi de la trompe ou oviducte comporte une tunique interne ou muqueuse ; une tunique moyenne ou musculeuse ; une tunique externe ou séreuse.




Dessin tiré de GREENE E.C. 1963. OVAIRE et TROMPE

1/ Au niveau de la marge de l'infundibulum

La trompe présente de très nombreuses franges (au nombre de 60 à 80), revêtues d'un épithelium cylindrique. Les cellules sont cylindriques, d'une hauteur de 25 à 30 microns et d'une largeur de 5 microns ; elles possèdent à leur partie apicale des cils, d'environ 4 microns de long ; les noyaux sont arrondis ou plus ou moins allongés.

2/ Au niveau de l'ampoule céphalique

Les franges sont au nombre de 60 à 80, d'une hauteur variant de 60 à 400 microns, chaque frange peut être subdivisée en franges secondaires. Les cellules épithéliales sont cylindriques ciliées, mais il existe parfois, des cellules fréquemment disposées par paires, dont l'extrémité apicale bombe légèrement dans la lumière ; ce sont des cellules secrétoires. Parfois entre les cellules ciliées se trouvent de petites cellules disposées en coin (cellules de remplacement).

3/ Au niveau de l'ampoule caudale

Les franges sont moins nombreuses et moins hautes. Dans cette région, les cellules ciliées sont encore nombreuses ; cependant les cellules dépourvues de cils deviennent plus nombreuses.

4/ Au niveau de l'Isthme

La transition avec l'isthme est graduelle, la couche musculaire lisse circulaire devient progressivement bien développée, cette couche a une épaisseur de 30 à 40 microns au niveau de l'ampoule caudale, atteignant une épaisseur de 100 microns au niveau de l'isthme caudal. Les franges sont beaucoup moins nombreuses. Les cellules ciliées ont tendance à se placer au fond des replis de la muqueuse, moins fréquemment sur les plans côtés, très rarement au sommet. Les cellules secrétoires, possèdent des granules de secrétion dans leur cytoplasme et des microvillosités à la partie apicale. Les cellules ciliées deviennent de moins en moins nombreuses au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'utérus, et disparaissent dans la région de la jonction tubo-utérine.

5/ Jonction Tubo-Utérine

L'épithélium de revêtement ne comporte pas de cellules ciliées. Les éléments cellulaires ont un noyau qui est gros, sphérique,

pourvu d'un à deux nucléoles, bien visibles ; le noyau est situé à la partie moyenne de la cellule. La partie apicale de la cellule, saille plus ou moins dans la lumière. Il existe également des cellules ressemblant à des lymphocytes, dont le cytoplasme est sombre, et le noyau sphérique ; ces éléments sont peu nombreux chez la ratte (S.J. HOOK et E.S.E. HAFEZ.1968), situés au dessus ou adjacents à la membrane basale.

La lamina propria, tissu conjonctif situé entre l'épithelium et la couche musculaire, formant à son côté interne les axes des franges, comporte une couche circulaire, peu épaisse, mais assez dense ; par contre au niveau des quatre principaux plis, se trouvent de nombreuses cellules et fibres, étroitement associées. Au niveau de l'ostium elle est dense, peu épaisse, et se mélange avec la lamina propria de l'endomètre.

La couche musculaire est formée d'une couche externe circulaire et d'une couche interne, longitudinale, très mince. Cette dernière est mal individualisée au niveau de l'ostium, se réduisantàquelques faisceaux.

II. MODIFICATIONS AU COURS DU CYCLE OESTRAL

L'épithelium de la trompe n'est soumis qu'à peu de changements durant le cycle oestral et ne manifeste qu'une faible fluctuation de l'activité mitotique. Les cellules qui entrent en division sont probablement les cellules basales. L'activité mitotique est très basse ; en effet, 11 % des cellules de l'épithelium de l'oviducte sont renouvelées au cours d'un cycle oestral (F.D.BERTALANFFY et C.IAU.1963), le "Turn Over" de l'épithelium de la trompe est donc de 41 jours environ.

C. L'UTERUS

L'Utérus de la ratte est bicorne. La paroi de l'organe présente à décrire :

Une muqueuse ou endomètre, constituée d'un épithelium de surface s'invaginant en profondeur, pour former les glandes utérines et un chorion vascularisé.

Une musculeuse ou myomètre constituée de deux couches de fibres musculaires lisses ; une couche interne faite de fibres musculaires lisses à disposition circulaire et une couche externe faite de fibres musculaires lisses à disposition longitudinale.

Une sereuse ou mesomètre

Il faut en outre décrire le cervix ou encore col utérin, qui chez la ratte a une structure tout à fait particulière.

## I. LE CORPS UTERIN

### 1/ La Muqueuse Utérine ou Endomètre

#### a) L'épithelium de Surface

C'est un épithelium unistratifié, reposant sur une membrane basale, le séparant du tissu conjonctif sous jacent, formé d'une couche unique de cellules dont l'aspect varie en fonction des différentes phases du cycle oestral.

A la fin du proestrus, l'épithelium est cylindrique ; les noyaux se trouvent à des niveaux différents, certains à la partie basale, d'autres à la partie apicale. De plus des mitoses, notamment des "metaphases", sont visibles, au pôle apical des cellules épithéliales.

Au début de l'oestrus, les cellules s'hypertrophient ; la plupart des noyeux sont rejetés à la partie basale ; en plein oestrus, l'hypertrophie cellulaire est encore plus nette ; à la fin de l'oestrus, des vacuoles cytoplasmiques deviennent visibles, et des leucocytes s'infiltrent entre la surface des cellules épithéliales.

Au début du metoestrus se produit une desquamation de l'épithelium de surface et à la fin de ce stade la plus grande partie de l'épithelium a desquamé ; seuls persistent quelques petits îlots, à partir desquels l'épithelium de surface pourra se régénérer.

Pendant la première partie du dioestrus, les zones de régénération deviennent de plus en plus importantes et au deuxième jour du dioestrus, la cavité utérine est à nouveau recouverte d'un épithelium simple, cuboïde, les éléments cellulaires devenant cylindriques, lors du proestrus.

#### b) Les Glandes

Les glandes utérines sont également recouvertes d'un épithelium unistratifié ; les éléments cellulaires demeurent cuboïdes durant tout le cycle oestral. Il existe cependant des variations de morphologie et d'activité secrétoire, les premiers étant évidemment sous l'influence des seconds. Les cellules atteignent leur plus grande taille, lors du dioestrus,

alors qu'elles élaborent et stockent leurs produits de secrétion, atteignant leur plus petite taille à la fin de l'oestrus alors que les produits de secrétion ont été libérés. Le diamètre des éléments glandulaires subit aussi des variations ; la lumière est distendue et contient souvent des secrétions muqueuses, durant le proestrus et le début de l'oestrus ; ce phénomène persiste durant toute la durée de l'oestrus, les glandes devenant moins régulières, plus tortueuses. Durant le dioestrus la lumière glandulaire présente un diamètre minimum.

c) Le stroma

Comprend des éléments cellulaires, fibreux et vasculaires.

- Les éléments cellulaires

De façon générale les éléments diminuent progressivement au fur et à mesure que l'on se rapproche du myomètre Au niveau de la partie sous-épithéliale de l'endomètre, les éléments cellulaires sont nombreux ; ce sont des cellules allongées, pourvues de peu de cytoplasme, contenant des noyaux gros, arrondis ou ovalaires, vésiculeux, nucléolés, dont la chromatine est répartie en mottes assez grossières.

- Les éléments fibreux

Inversement les éléments fibreux deviennent de plus en plus nombreux et denses au fur et à mesure que l'on se rapproche du myomètre. Sous l'épithelium de surface les fibres de collagène forment un fin réseau à mailles assez lâches, les fibres sont fines, délicates, ce solorant légèrement. Plus en profondeur, elles ont tendance à se grouper en grossiers paquets, notamment autour des glandes, formant autour de ces dernières des anneaux. Enfin au niveau de la couche musculaire elles deviennent plus denses, beaucoup plus épaisses, se colorant de façon plus intense. Chez l'animal immature le stroma est surtout cellulaire, la proportion des éléments fibreux augmentant avec l'âge. Les cellules sont rondes ou ovales, pauvres en cytoplasme possédant un gros noyau, rond ou ovale, vésiculeux, nucléolé, à membrane nucléaire nette, à chromatine répartie en mottes ; les éléments fibreux forment un réseau à mailles larges et fines sous l'épithelium, devenant plus denses et plus nombreuses au voisinage du myomètre.

Chez la Ratte prépubère, B.A. KASPROW (1969) divise les uterus en cinq classes :

Classe I

L'épithelium de revêtement de l'utérus est cylindrique, allant jusqu'à une hauteur moyenne de 20 microns ; il n'y a pas ou très rarement de mitoses, au niveau de l'épithelium, du stroma, et du muscle lisse circulaire.

Classe II

L'épithelium de revêtement est également cylindrique bas, cependant l'activité mitotique est plus intense, soit au niveau de l'épithelium, soit au niveau du stroma, soit au niveau du muscle lisse circulaire, ou partout à la fois.

Classe III

La hauteur de l'épithelium de revêtement est moyenne : 20 à 30 microns, ne présentant pas de dégénérescence vacuolaire.

Classe IV

La hauteur de l'épithelium de revêtement est supérieure à 30 microns, ne présentant pas généralement de dégénérescence vacuolaire, soit parfois quelques petites vacuoles dans une minorité de cellules.

Classe V

Indépendamment de la hauteur modérée ou très importante, dégénérescence vacuolaire des cellules de l'épithelium de revêtement.

Les manifestations histologiques observées dans les utérus de classe III sont identiques à celles observées dans les uterus de rattes en dioestrus ; il en est de même pour les classes IV et V, du proestrus au metoestrus de rattes à activité cyclique.

d) Structure en microscopie électronique

Les divers composants cytoplasmiques et nucléaires des cellules épithéliales de l'endomètre, vont subir des variations caractéristiques, lors des différentes phases du cycle oestral (H.A.KRONE et K.RICKERS. 1967).

Pendant le dioestrus

la plus grande partie des cellules sont de petite taille.

- Le noyau

Il est en général situé au centre de la cellule, arrondi, volumineux. La chromatine présente une distribution diffuse, entourant des zones de

granules interchromatiques, dont la taille n'est guère différente de celle des ribosomes.

- Le Cytoplasme

Les mitochondries sont rares, de petite taille, arrondies ou elliptiques, ne possédant que peu de crêtes, et une matrice claire.

Le reticulum endoplasmique agranulaire n'est constitué que de peu de vésicules. Le reticulum endoplasmique de type granulaire n'est pas visible.

L'Appareil de Golgi est peu développé, se présentant sous forme lamelleuse, dénué de grains de secrétion.

Les ribosomes libres sont peu nombreux, réunis sous forme de polysomes, à disposition diffuse dans le cytoplasme. Il existe en outre quelques microtubules.

Il existe en outre des cellules d'un type particulier ; ce sont des cellules à cytoplasme très foncé, osmiophile. Les mitochondries y sont rares, de forme allongée ; leur matrice est claire et leurs crêtes plus ou moins fragmentées. Le reticulum endoplasmique et les ribosomes libres sont pratiquement absents. Il en est de même pour le noyau ; cependant quand celui-ci est présent, il est en grande partie homogénéisé. Ce sont (H.A. KRONE et K. RICKERS), des cellules nécrotiques en voie de desquamation.

Pendant le proestrus

L'endomètre commence à proliférer. Les cellules épithéliales augmentent de volume.

- Le Noyau

Arrondi ou allongé, il est situé au centre de la cellule. En son sein se trouve un fin réseau de substance chromatique, entourant des granules interchromatiques. Il est généralement pourvu d'un à deux nucléoles accolés à la membrane nucléaire.

- Le Cytoplasme

La substance fondamentale est plus foncée.

Les mitochondries sont plus nombreuses, toujours arrondies ou elliptiques, leur matrice demeure claire, cependant leurs crêtes sont plus nombreuses et disposées parallèlement.

Le reticulum endoplasmique agranulaire ne comporte qu'un nombre modéré de vésicules. Le reticulum endoplasmique granulaire n'est toujours pas visible.

L'appareil de Golgi est toujours peu développé, constitué de deux à trois citernes à parois lisses sans dilatations.

Les ribosomes libres sont beaucoup plus nombreux, à répartition diffuse, s'assemblant sous forme de polysomes, trois à six ribosomes. Il existe, en outre, quelques microtubules ; H.A. KRONE et K. RICKERS constatent la présence de goutelettes lipidiques, à la partie basale du cytoplasme ; en outre existent quelques microvillosités à la surface des cellules épithéliales.

Pendant l'oestrus

La prolifération cellulaire est ici à son maximum. Les cellules épithéliales sont hautes et larges.

- Le noyau

Les noyaux sont gros, plus ou moins allongés, situés en position basale. Leur structure n'est pas ou peu modifiée, cependant leur surface est irrégulière du fait de la présence de nombreuses invaginations. Les nucléoles présentent un aspect identique au stade précédent.

- Le Cytoplasme

La substance fondamentale est encore plus foncée.

Les mitochondries sont très nombreuses, allongées ; leur matrice est claire et leurs crêtes nombreuses sont disposées de façon parallèle.

Le reticulum endoplasmique agranulaire est constitué de nombreuses vésicules, limitées par des membranes lisses, plus ou moins dilatées, et disposées dans tout le cytoplasme sans localisation élective. Elles sont vides ou contiennent un matériel, soit granuleux, soit filamenteux.

Le recitulum endoplasmique granulaire typique n'est généralement pas présent à ce stade.

L'Appareil de Golgi est bien développé à ce stade, avec une accumulation de vacuoles en position supranucléaire, cependant il n'y a pas de granules de secrétion, ni de lipides

Les ribosomes libres sont très nombreux, à ce stade, affectant une disposition diffuse dans le cytoplasme, et formant de façon plus marquée des polysomes. De plus les microtubules sont peu nombreux, situés à la partie apicale des cellules ; les microvillosités à la surface des cellules épithéliales sont plus nombreuses.

Pendant le metoestrus

Se constitue la phase de secrétion. Les cellules épithéliales n'ont pas augmenté de volume et leur forme est identique à celle du stade précédent.

- Le Noyau

Les noyaux sont situés au centre des cellules, ovalaires, allongés ou arrondis. Leur surface est lisse, en effet les invaginations sont peu profondes. Il existe le plus souvent deux nucléoles à la face interne de la membrane nucléaire.

- Le Cytoplasme

Lez microvillosités sont encore nombreuses, parfois absentes en certaines régions, la surface cellulaire apparaissant aussi lisse en des régions circonscrites.

Les mitochondries sont nombreuses, plus volumineuses, allongées; leur longueur peut atteindre jusqu'à 2, 2 microns. Leur matrice est foncée, et leurs crêtes nombreuses, sont disposées parallèlement.

Les éléments du reticulum endoplasmique agranulaire sont rares à ce stade ; caractéristique de ce stade, est la présence d'un reticulum endoplasmique granulaire ou encore ergastoplasme. Le degré de développement de cet organite est différent suivant les cellules glandulaires. Généralement c'est à proximité du noyau qu'il est le plus développé, ses lamelles se continuant avec le feuillet externe de la membrane nucléaire. Les membranes, garnies à leur surface de ribosomes, limitent des espaces atteignant jusqu'à 0,2 micron de large et 2,6 microns de long Ceux-ci peuvent être vides ou contenir un matériel, soit finement granuleux, soit filamenteux.

L'Appareil de Golgi est bien développé. H.A. KRONE et K. RICKERS n'ont pu observer une continuité directe entre les membranes de l'ergastoplasme et celles de Golgi ; cependant il existe des évaginations et des ouvertures de l'ergastoplasme vers la zone du Golgi. L'Appareil de Golgi comporte trois à six saccules, à disposition parallèle, dilatés à leurs extrémités en grosses vacuoles ; de plus il renferme des goutelettes de secrétion, nombreuses, à structure interne, homogène ou granuleuse. Il existe aussi de nombreuses vésicules de Golgi, arrondies ou elliptiques.

Les ribosomes libres sont aussi nombreux qu'au stade précédent, disposés en polysomes, à distribution diffuse dans le cytoplasme.

D'autre part, il existe un nombre accru de goutelettes lipidiques, au contact de l'Appareil de Golgi, particulièrement nombreuses à la partie basale. Il existe également quelques microtubules. A ce stade, les auteurs ont observé, dans la lumière des glandes, des formations modérément osmiophiles, de forme arrondie ou ovalaire, pouvant atteindre la taille de 0,4 micron, à surface lisse, finement granuleuses.

En 1969, S. TACHI, C TACHI et H.R. LINDNER remarquent que, au cours du cycle oestral, et plus fréquemment durant le stade de post implantation, certaines cellules du stroma de l'endomètre sont ciliées.

De nombreuses cellules du stroma de l'endomètre (en particulier au moment de la gestation : cellules déciduales) sont pourvues d'un unique cil. Ce dernier nait à partir d'un corpuscule basal, fortement coloré et fait habituellement protusion dans l'espace intercellulaire.

Les cils sont constitués de doublets fibrillaires, directement associés au corpuscule basal ; la membrane cellulaire s'invagine profondément, à la sortie du cil de la cellule, entourant presque tout le corps du cil ; la longueur de cette invagination est de

1,5 millimicron à 2,1 millimicrons.

Autour du corpuscule basal se trouvent de nombreux microtubules ; les éléments de l'Appareil de Golgi sont très développés près du noyau et à proximité du corpuscule basal.

- Centrioles.

Ce cil présente des rapports étroits avec les centrioles constituants du diplosome, les axes de ceux-ci se coupant à angle droit. En assimilant le corpuscule basal au centrioles distal, l'autre centriole forme le centriole proximal. Constitués de neuf triplets. Le centriole proximal peut être dédoublé, ce qui n'est pas le cas du centriole distal. Du côté du centriole distal l'invagination de la membrane cellulaire, entourant la base du cil, est dilatée.

- Filaments du cil

Il n'y a pas généralement de filaments centraux ; en section transversale on note fréquemment un arrangement 8+1 ou 7+1. Cependant les fibrilles localisées au centre ne ressemblent pas aux fibrilles des vrais cils mobiles. Les filaments sont engeinés par une gaine membraneuse, à son tour entourée de la membrane cellulaire invaginée.

- Les cellules binuclées

Les cellules déciduales se répartissent en deux types :

- cellules binuclées à deux noyaux indépendants
- cellules binuclées dont les deux noyaux sont reliés l'un à l'autre.

Le noyau est ovalaire et lisse, avec parfois quelques incisures de la membrane nucléaire.

Ces cellules sont souvent pourvues de multiples cils.

e) Renouvellement cellulaire

F.D. BERTALANFFY et C LAU (1963) ; F LEROY et D. MANAVIAN (1967) ; F. LEROY P. GALAND et J. CHRETIEN (1969).

1/ Dans de l'épithelium de surface

Il existe deux pics d'activité mitotique ; l'un durant le proestrus ; cette activité diminue durant l'oestrus, et atteint un deuxième pic durant la première partie du dioestrus. Le pourcentage de cellules nouvellement formées, lors d'un cycle oestral, est donné par le tableau suivant:

Tiré de F.D. BERTALANFFY et C LAU (1963)

| Phase du cycle | Longueur de chaque phase en heures | Taux de mitoses en % durant chaque phase |
|---|---|---|
| Proestrus | 14,9 | 16,1 |
| Oestrus I | 18,0 | 9,9 |
| Oestrus II | 12,0 | 3,6 |
| Metoestrus | 13,3 | 7,1 |
| Dioestrus I | 24,0 | 22,8 |
| Dioestrus II | 24,5 | 15,4 |
| TOTAL | 107,4 | 74,9 |

Ainsi 75 % des cellules de l'épithélium de surface sont renouvelées, durant un cycle oestra; Le "Turn Over" de cet épithélium est donc de 5,9 jours.

2/ Au niveau des Glandes

Les Mitoses sont très nombreuses, en particulier durant le metoestrus ; l'activité mitotique chute graduellement pendant le dioestrus, alors que les cellules élaborent leur produit de secrétion et est encore plus basse pendant le stade suivant. Durant toutes les phases du cycle, la plus importante activité mitotique s'observe au niveau de la partie basale des éléments glandulaires,; dans le stroma, les mitoses sont également nombreuses, au niveau des fibroblastes, en particulier à la fin de l'oestrus

et lors du metoestrus ; ceci témoigne de la prolifération active qui se produit de façon périodique dans ce tissu. Ainsi les variations nettes d'activité ne sont vraiment apparentes que lors du dioestrus et du metoestrus. L'activité mitotique des glandes est faible durant le proestrus et l'oestrus, augmente lors du metoestrus et décline pendant la deuxième partie du dioestrus. Le pourcentage de cellules nouvellement formées au niveau des glandes est donné par le tableau suivant :

Tiré de F D. BERTALANFFY et C. LAU (1963)

| Phase du cycle | Longueur de chaque phase en heures | Taux de mitoses en % durant chaque phase |
|---|---|---|
| Proestrus | 14,9 | 1,2 |
| Oestrus I | 18,0 | 2,7 |
| Oestrus II | 12,7 | 0,8 |
| Metoestrus | 13,3 | 14,6 |
| Dioestrus I | 24,0 | 14,9 |
| Dioestrus II | 24,5 | 8,6 |
| TOTAL | 107,4 | 42,8 |

Ainsi durant un cycle oestral, 43 % des cellules des glandes de l'endomètre sont renouvelées, ceci étant en rapport avec la dégénérescence d'un tiers de l'endomètre durant chaque cycle. En 1967 F. LEROY et D. MANAVIAN, étudiant la teneur en A.D.N. des noyaux de l'endomètre, aboutissent aux résultats suivants :

Dans l'épithelium le contenu en A.D.N. nucléaire moyen a une valeur minimale, au début de l'oestrus, atteignant sa valeur maximale, lors de la première partie du dioestrus.

Dans le stroma, le contenu en A.D.N. nucléaire moyen s'élève pour atteindre son maximum lors de la deuxième partie de l'oestrus, puis revient progressivement à sa valeur initiale au cours du dioestrus. Il se produit ainsi, au niveau des constituants de l'endomètre une évolution de la concentration nucléaire de l'A.D.N. au cours du cycle : les valeurs maximales se situant dans la phase post-ovulatoire, mais au niveau des cellules épithéliales, le pic de concentration maximale est décalé d'environ une vingtaine d'heures par rapport à ce qui s'observe au niveau du stroma.

Dans un travail plus récent, F. LEROY - P. GALAND et J. CHRETIEN (1969) étudiant l'activité mitotique des cellules épithéliales de l'endomètre au cours du cycle, en utilisant la thymidine tritiée, en arrivent

également à une conclusion identique. La prolifération cellulaire est à son taux le plus bas, durant la deuxième moitié de l'oestrus, le taux maximal de division cellulaire étant atteint de façon assez brusque au début du dioestrus ; à partir de cette période il chute pour atteindre sa valeur minimale à la fin de l'oestrus.

2/ La Musculeuse ou Myomètre

Le myomètre de la ratte est constitué de deux couches de fibres musculaires lisses ; une couche interne, faite de fibres musculaires lisses, à disposition circulaire, et une couche externe, faite de fibres musculaires lisses, à disposition longitudinale Ces éléments cellulaires se trouvent évidemment au sein d'un tissu interstitiel, formé de fibres de collagène et de fibrocytes. Entre ces deux couches se trouve une bande de tissu conjonctif plus ou moins importante. Le myomètre est richement vascularisé et innervé ; entre les deux couches musculaires se trouvent de nombreuses artérioles et veinules

a) Structure en microscopie optique

Les fibres musculaires lisses présentent la structure classique suivante : ce sont des cellules fusiformes, bordées par une membrane ; le noyau est situé au centre de la cellule, gros, en forme de bâtonnet, nucléolé ; dans le sarcoplasme, se trouvent les myofibrilles, allongées suivant le grand axe de la cellule. Le myomètre est limité en dehors par le mésomètre.

b) Structure en microscopie électronique

Un certain nombre d'auteurs ont étudié la structure du muscle utérin en microscopie électronique, dont : J.S.T. MARK (1956) ; R.A. BERGMAN (1966) ; R. ROSS et S.J. KLEBANOFF (1967) ; D E. SILVA (1967). Ce dernier s'est surtout intéressé aux rapports existant entre les fibres musculaires lisses et les faisceaux nerveux Ce sont des éléments allongés, fusiformes.

- La Membrane cellulaire

Ou encore appelée, sarcolemme, d'une épaisseur d'environ 15 millimicrons, souvent discontinue. La surface cellulaire n'est pas entièrement lisse. mais présente de minces projections et quelques replis.

- Le Noyau

entouré d'une membrane, d'une épaisseur de 20 millimicrons. Il est situé généralement en position centrale, de forme ellipsoïde, comportant un à deux nucléoles.

- Le Sarcoplasme

Constituant une matrice, dans laquelle baignent les myofilaments, les mitochondries, le reticulum endoplasmique, et des inclusions diverses. Il est formé de particules de taille variable, éparpillées. Sous la membrane cellulaire, il existe souvent un nombre modéré, de vésicules ovoïdes, à paroi fine, de 60 millimicrons de diamètre.

- Les Mitochondries

sont situées dans le sarcoplasme, au niveau des extrémités du noyau, parfois le long de celui-ci, ou le long du bord de la cellule. Bordées d'une membrane épaisse de 20 millimicrons, possédant une matrice dense, et munies de crêtes parallèles entre elles, et perpendiculaires à leur grand axe.

- Les myofilaments

Leur aspect dépend de la méthode de préparation des tissus (J.T.S. MARK 1956). Ainsi selon cet auteur, les filaments sont denses, mesurant 20 millimicrons, si la fixation est effectuée à l'acide phosphomolybdique ; par contre si la fixation est effectuée à l'acide osmique, ce sont de délicats filaments de 10 à 20 millimicrons de diamètre. Ces filaments s'étendent à travers toute la matrice et ne sont pas strictement parallèles entre eux ; la matrice cytoplasmique s'interpose entre les myofilaments et la membrane cellulaire. Au centre les filaments sont plus longs qu'à la périphérie

- le reticulum endoplasmique
- l'Appareil de Golgi
- Les ribosomes libres.

Le réticulum endoplasmique est de type granulaire, situé dans la matrice cytoplasmique entourant le noyau, constitué de quelques citernes, pourvues d'un petit nombre de ribosomes, à leur surface L'Appareil de Golgi est bien développé ; il existe dans le cytoplasme des ribosomes libres, souvent assemblés en rosette.

c) Changements lors du cycle oestral (en microscopie electronique)

Les fibres musculaires lisses et les cellules du tissu conjonctif subissent des changements morphologiques, lors des différentes phases du cycle oestral

- Au niveau des éléments musculaires

Lors du dioestrus, les éléments musculaires lisses présentent la morphologie sus décrite.

Lors de l'oestrus, le reticulum endoplasmique et l'Appareil de Golgi s'accroissent de façon considérable. Le reticulum endoplasmique granulaire, comporte de nombreuses citernes, formant des replis plus ou moins complexes ; les membranes sont bordées par un grand nombre de ribosomes ; les citernes du reticulum endoplasmique et de l'Appareil de Golgi contiennent un matériel qui apparait dense. La surface cellulaire, en outre, devient déformée par de nombreux replis et expansions, au niveau desquels on trouve des éléments du reticulum endoplasmique et de l'Appareil de Golgi Toutes ces modifications morphologiques s'observent chez la ratte immature traitée par les oestrogènes, et lors d'injections d'oestrogènes à des rattes ovariectomisées (R.A. BERGMAN, 1966 ; R. ROSS et S.J. KLEBANOFF.1967). Donc lors de l'oestrus, où le taux d'oestrogènes sanguins est élevé, des changements morphologiques caractéristiques se produisent, à savoir: augmentation de taille de l'Appareil de Golgi, accroissement des citernes du reticulum endoplasmique granulaire, augmentation du nombre des ribosomes.

- Au niveau des cellules du tissu conjonctif

Chez l'animal en dioestrus, les cellules ont l'aspect de fibrocytes; cellules en forme de fuseau, allongées étroites, à noyau ellipsoïde, nucléolé ; elles comportent un reticulum endoplasmique granulaire, formé de quelques citernes, un petit Appareil de Golgi et de nombreuses mitochondries.

Lors de l'oestrus, des changements morphologiques nets se produisent. Les cellules ont l'aspect de fibroblastes. Les citernes du reticulum endoplasmique sont beaucoup plus volumineuses, dilatées et réparties dans tout le cytoplasme. L'Appareil de Golgi participe également à ce proeessus.

d) Structure en microscopie électronique des [illegible] des artérioles du myomètre

P. ROHLICH et J. OLAH constatent, en 1967, la présence, dans des cellules endothéliales des artérioles du myomètre, de filaments présentant

une striation transversale périodique caractéristique. Le cytoplasme des cellules endothéliales est volumineux et riche en organites.

- L'Appareil de Golgi

Bien développé, occupant une grande partie du cytoplasme, entourant souvent les centrosomes

- Les Mitochondries

Petites, allongées, principalement orientées, suivant le grand axe de la cellule.

- Le Reticulum endoplasmique

Des deux types, granulaire et agranulaire, cependant le type granulaire est le plus fréquent ; les citernes sont éparpillées dans le cytoplasme, à disposition préférentielle, perpendiculaire à la surface cellulaire

- Les Ribosomes libres

sont assez nombreux, formant soit des rosettes, soit des chainettes.

- Les Filaments

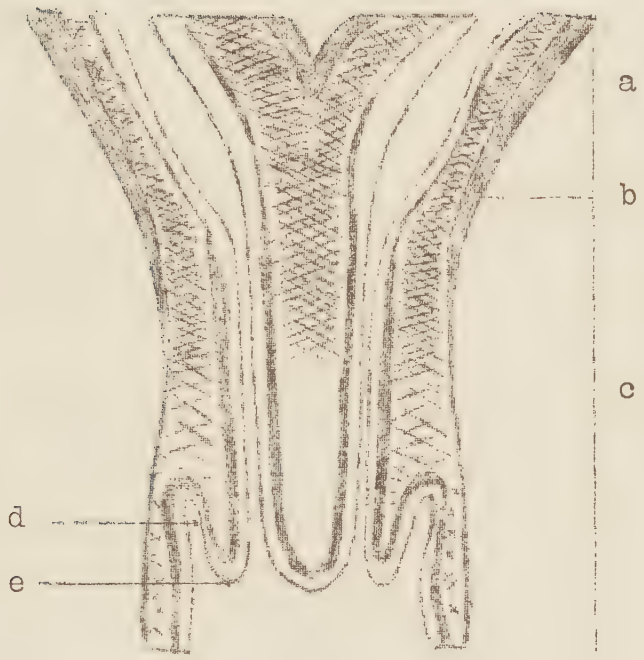
Amas filamenteux situés à la partie basale des cellules endothéliales, la direction des filaments est parallèle à l'axe longitudinal de la cellule. L'épaisseur moyenne de ces fibrilles est de 0,4 microns, leur longueur d'environ 8,5 microns. Les filaments constituant de la fibrille ont une épaisseur d'environ 7 millimicrons. Les fibrilles présentent une striation transversale caractéristique, faite de bandes denses à disposition périodique ; la périodicité étant de 560 millimicrons ; l'épaisseur des bandes denses est approximativement de 100 millimicrons. P. ROHLICH et J.OLAH considèrent que ces fibrilles ont une fonction contractile et proposent l'appellation de "myoendothelium"

## II. LE COL UTERIN

La ratte possède deux cornes utérines (E.BURACK - J.M. WOLFE W IANSING et A.W. WRIGHT. 1941 ; C E HAMILTON 1951). Chacune de celle-ci communique dans le vagin par son propre canal cervical, chacun des canaux s'ouvrant dans le vagin par des orifices séparés.

Au niveau du tiers supérieur du col, qui représente sa portion utérine, l'épithélium est cylindrique ; mais à l'endroit où la lumière du canal, d'abord oblique, devient relativement étroite et rectiligne, l'épithelium devient stratifié, squameux ; il n'est cependant pas aussi épais que celui du vagin, et l'on considère cet epithelium comme intermédiaire et transitionnel entre les epitheliums de l'endomètre et du vagin

XI




COUPE LONGITUDINALE DU COL UTERIN CHEZ LA RATTE

( Tiré de E.BURACK,J.M.WOLFE,W.LANSING et A.W.WRIGHT.1941)

En noir:la couche musculaire lisse longitudinale
En hachures:la couche musculaire lisse circulaire
En blanc:la muqueuse

a:partie utérine du col
b:niveau où l'épithélium cylindrique se transforme en épithélium stratifié
c:partie verticale du col
d:cul de sac vaginal
e:lèvres du canal cervical

C'est à ce niveau que la couche musculaire longitudinale diminue d'épaisseur et se perd dans le tissu conjonctif qui entoure le col ; la couche musculaire lisse, circulaire des cornes utérines se continue au niveau du col formant des groupes de fibres musculaires lisses à disposition circulaire, situées surtout dans la moitié supérieure, verticale, du col ; puis à la partie inférieure, ils tendent à disparaître, étouffés par l'augmentation croissante du tissu conjonctif, notamment au niveau des lèvres du col. Sur toute la longueur des canaux cervicaux une couche musculaire lisse, longitudinale interne se développe. Au niveau de l'éperon central, les couches musculaires lisses se fusionnent, par contre latéralement les couches musculaires longitudinales sont continues jusqu'aux lèvres et s'étendent au vagin pour former sa couche musculaire lisse, longitudinale interne.

Le tissu conjonctif, situé sous l'épithélium est semblable à celui de l'endomètre, jusqu'à une distance variable, du point où l'épithelium cylindrique se transforme en épithelium pluristratifié, c'est à dire délicat, peu fibrillaire et très cellulaire. Au dessous de ce point, il devient progressivement plus dense, formé de fibres plus denses, courant parallèlement à la couche musculaire longitudinale, notamment au niveau des lèvres externes du col ; au niveau des culs de sac vaginaux par contre, les éléments fibrillaires se présentent sous la forme d'un réseau de fibres fines.

- Modifications de l'épithelium du col au cours du cycle

L'épithelium subit des changements cycliques, lors des différentes hases du cycle oestral, analogues à ceux de l'épithelium vaginal.

Ainsi la hauteur de l'épithelium, passe de dix couches cellulaires, lors du proestrus, à trois ou quatre couches, lors du meteestrus. La plupart de mitoses, se voient au niveau de la couche basale ; on peut en voir parfois à la partie la plus basse de la couche parabasale. L'activité mitotique est à son maximum durant la première partie du dioestrus (26%) et à son minimum au début de l'oestrus (7,4 %). (F.D. BERTALANFFY et C.IAU 1963) Enfin 81 % des éléments cellulaires sont renouvelés durant un cycle oestral : le "Turn Over" de l'épithelium est donc de 5,5 jours.

## III. CHANGEMENTS OBSERVES AU NIVEAU DU TISSU CONJONCTIF UTERIN EN FONCTION de l'AGE

Au cours du vieillissement, il se produit des changements de structure du stroma de l'endomètre consistant en une augmentation du tissu fibreux. Ainsi la teneur en collagène de l'utérus augmente avec l'âge, celle des organes les plus vieux étant trois fois supérieure à celle des utérus jeunes (M.C. SCHAUB.1965).

1/ Endomètre

Chez l'animalimmature le stroma de l'endomètre est très cellulaire ; les cellules apparaissent arrondies ou ovalaires, ne comportant que peu de cytoplasme ; les noyaux sont ronds ou ovalaires, à membrane nucléaire nette, possédant des nucléoles bien visibles, et une chromatine répartie en petites mottes arrondies. Les éléments cellulaires sont plus abondants dans la région interne, partie sous-épithéliale, que dans la région externe près du muscle. Entre ces cellules s'étendent des fibres de collagène. Sous l'épithelium les fibres sont fines, délicates, bien séparées et légèrement colorées ; mais plus profondément, elles deviennent plus épaisses, plus denses et plus intensément colorées, en particulier à proximité du myomètre, où les éléments cellulaires sont moins abnndants et les éléments fibreux plus nombreux.

Du stade immature au troisième mois, il se produit une augmentation importante du collagène. Sous l'épithélium, les fibres demeurent fines, mais plus profondément elles ont tendance à se grouper en faisceaux, notamment à proximité du muscle ; au voisinage des glandes les fibres adoptent une disposition concentrique. Les cellules sont également moins nombreuses, plus allongées, cependant pourvues d'un noyau gros etvésiculeux.

Du troisième au sixième mois, il se produit toujours une augmentation nette du collagène, cependant variable suivant les endroits. Sous l'épithélium, les cellules ont un noyau, rond, vésiculeux, et s'étendent au sein d'un réseau fibrillaire lâche et relativement fin ; mais en certains endroits de l'endomètre superficiel, se trouve un grillage, dense de fibres épaisses. A la partie moyenne de l'endomètre, les fibres sont plus grossières, entre celles-ci se trouvent des cellules à noyaux arrondis ou ovalaires, vésiculeux ; parfois ces fibres forment des sortes de bandes autour des glandes, comprimant les cellules. A la partie externe de

l'endomètre, le collagène devient plus dense ; les fibres ondulées s'enlacent et forment de grossiers paquets comprimant ainsi les cellules du stroma, d'où la forme en fuseau des éléments cellulaires ; le noyau allongé, apparaissant souvent plus ou moins pycnotique.

2/ Le Myomètre

Des modifications se produisent également au niveau du myomètre. Jusqu'à l'âge de six mois, il n'y a pas d'augmentation nette du collagène. Cependant, il existe parfois une augmentation assez nette du collagène, entourant la paroi des artères qui se trouvent entre les deux couches musculaires. L'animal vieillissant le tissu conjonctif du myomètre devient progressivement de plus en plus abondant et chez les animaux plus âgés, il constitue une portion considérable de la paroi musculaire. C'est au niveau de la couche la plus interne que se produisent les modifications les plus précoces ; à un stade plus tardif, la couche externe est également atteinte et dans les cas extrêmes, le collagène réduit les faisceaux musculaires lisses, à d'infimes proportions.

3/ Le col

Le stroma du col, en particulier chez l'animal jeune, est presque uniquement cellulaire. Il se produit ainsi une augmentation considérable du collagène, du stade immature au troisième mois ; il en résulte un agrandissement dans les trois dimensions. Les lèvres des canaux cervicaux deviennent si grandes et si épaisses qu'elles se projettent dans le vagin, réunissant parfois les deux ouvertures normalement séparées, en une issue unique.

## IV. INNERVATION

En 1967, TP. PESSACQ décrit la morphologie des fibres et terminaisons nerveuses chez la ratte immature, il distingue ainsi :

Les plexus nerveux du mésomètre

Les troncs principaux ont, dans les feuillets péritonéaux du mésomètre, une orientation plus ou moins perpendiculaire à l'axe longitudinal de l'utérus ; suivant généralement le trajet des vaisseaux ; les nerfs, myéliniques, ont un trajet souvent sinueux. De ces troncs principaux naissent des collatérales destinées aux vaisseaux sanguins, ces nombreuses collatérales s'entrecroisent et dessinent un réseau très touffu. Ces filets nerveux se mettent en rapport avec des vaisseaux (artérioles et veinules) par l'intermédiaire de dispositifs terminaux : anneaux, boutons, masses terminales, arborisations.

Les fibres nerveuses intra-utérines

Pénétrant dans la paroi de l'utérus, les gros troncs du mésomètre ont une disposition différente ; leur trajet sous-séreux est parallèle à l'axe longitudinal de l'utérus. Parfois ils peuvent se diviser en T ; se constituent ainsi des bandes arciformes s'étendant tout le long du bord péritonéal de l'utérus. Les gros faisceaux nerveux marginaux donnent naissance à des collatérales beaucoup plus fines qui se ramifient de façon extrême, donnant un lacis touffu de fines fibrilles recouvrant toute la couche musculaire de l'utérus. L'innervation des vaisseaux myométriaux est de même type que celle des vaisseaux mésométriaux. Parfois les gros vaisseaux myométriaux sont entourés d'un lacis de fibres nerveuses fines. Suivant les régions de l'utérus les fibres nerveuses se répartissent de manière évidemment très différente ; ainsi elles sont plus abondantes au niveau du segment cervical qu'au niveau des cornes ; les nerfs du col donnant naissance, entre les feuillets péritonéaux, à un véritable plexus.

1/ L'Innervation neuro-végétative

En 1969, N. ADHAM et E.SCHENK décrivent cette dernière chez la ratte.

a) Innervation cholinergique

- Au niveau du mésomètre

De gros troncs nerveux, constitués de fibres cholinergiques, s'étalent le long du bord du mésomètre des cornes utérines et du col; leur trajet est sinueux. Ces troncs sont parfois à proximité d'une artère ou d'une veine. Puis ceux-ci se divisent en un certain nombre de troncs secondaires, leur direction étant perpendiculaire à celle des troncs d'origine ; les branches issues de ces troncs secondaires innervent les vaisseaux et pénètrent dans les couches musculaires du col et des cornes. Au niveau du col notamment, il existe le long des gros troncs d'origine des ganglions comportant deux types de cellules :

Les plus nombreuses, sont les cellules contenant de l'acetyl-cholinesterase, elles sont grosses, étoilées.

Le deuxième type est constitué de cellules contenant de la norepinephrine, elles sont plus petites, et habituellement ovalaires. Elles sont soit isolées, soit réparties en petits groupes, parmi les cellules du premier type.

- Au,niveau des couches musculaires

Au niveau du col, les branches issues des troncs secondaires, pénètrent dans le muscle et vont former en se divisant des branches destinées aux vaisseaux et des branches destinées aux cellules musculaires lisses. Les branches vasculaires entourent les artérioles et veinules de la couche musculaire, à partir de ces plexus périvasculaires, s'échappent de fines fibres nerveuses, destinées à la média des vaisseaux sanguins, Quant aux branches musculaires, elles entrent

en étroit contact avec les cellules musculaires lisses et forment un véritable plexus. Au fur et à mesure que l'on se rapproche des cornes utérines, l'innervation devient moins fournie.

Au niveau du corps utérin, les troncs cholinergiques accompagnant les artères et les veines forment entre les deux couches musculaires lisses un plexus nerveux ou plexus myométrial, en étroite relation avec le plexus vasculaire du myomètre. A partir de ce plexus naissent d'une part des branches qui se dirigeant vers l'endomètre, de façon radiaire et appelées "nerfs endométriaux radiaires", et d'autre part des branches se dirigeant vers la surface externe de l'utérus et appelées "nerfs myometriaux radiaires". Les nerfs endométriaux et myométriaux radiaires donnent naissance à des branches musculaires, se répartissant dans les deux couches, et à des branches vasculaires destinées aux vaisseaux des couches musculaires. La couche interne est plus richement innervée que la couche externe.

- Au niveau de la muqueuse

Il existe deux plexus nerveux muqueux ; un plexus muqueux profond et un plexus muqueux superficiel, sous-épithélial.

Le plexus profond se trouve dans la partie profonde de la muqueuse, au voisinage de la couche musculaire, il est issu du plexus myométrial, et comporte des fibres nerveuses, vasculaires, entourant le plexus vasculaire muqueux profond. Du plexus nerveux profond naissent des fibres nerveuses, à direction radiaire, qui se dirigent vers l'épithélium, où elles se rassemblent pour former le plexus muqueux superficiel, sous épithélial. La plupart des fibres nerveuses endométriales sont en rapport avec de petits vaisseaux et les glandes. Quelques fibres nerveuses, très courtes, naissent à partir du plexus superficiel et parfois pénètrent dans l'épithélium. L'intensité de l'innervation décroit, du col à l'extrémité des cornes utérines.

b) Innervation adrénergique

- Au niveau du mésomètre

Les troncs adrénergiques ont à peu près la même répartition, orientation, et le même mode de division que les troncs cholinergiques ; cependant les nerfs adrénergiques sont moins nombreux, et beaucoup moins ramifiés.

- Au niveau des couches musculaires

Au niveau du col, l'innervation adrénergique est à peu près identique à l'innervation cholinergique, mais elle est cependant moins développée ; ce sont surtout les fibres nerveuses, vasculaires, qui sont développées, il n'existe que peu de fibres nerveuses, destinées aux cellules musculaires lisses.

Au niveau du corps les innervations adrénergiques et cholinergiques sont identiques.

- Au niveau de la muqueuse et des

L'innervation adrénergique est beaucoup moins développée que l'innervation cholinergique. Les fibres adrénergiques, forment un plexus nerveux, muqueux, profond, peu développé ; à partir de celui-ci naissent quelques branches, à direction radiaire, qui se dirigent vers l'épithélium de surface; parfois de petites branches entourent les glandes endométriales.

c) Variations au cours du cycle oestral

N. ADHAM et E. SCHENCK étudient ce phénomène en se fondant sur le nombre de fibres nerveuses colorées en une certaine région, et sur l'intensité de la coloration de ces fibres.

Au cours de l'oestrus, les fibres nerveuses, cholinergiques et adrénergiques sont plus nombreuses et la coloration les mettant en évidence est plus intense.

Durant le Dioestrus se produit le phénomène inverse.

Au cours du proestrus et du metoestrus, la situation est intermédiaire.

2/ Microscopie électronique des terminaisons nerveuses de l'utérus

D.G. SILVA (1967). Le myomètre comporte des fibres nerveuses non myélinisées, partiellement ou complètement, entourées par le cytoplasme des cellules de Schawnn, cependant la densité de l'innervation est très variable, les faisceaux nerveux étant plus nombreux et plus denses au niveau des vaisseaux qu'au niveau des fibres musculaires lisses.

Les relations existant entre les fibres nerveuses et les cellules musculaires lisses sont très variables. Il existe des faisceaux aplatis de fibres nerveuses jusqu'à 10 microns de large qui s'étendent parallèlement aux cellules musculaires lisses. Les cylindraxes sont séparés des cellules musculaires lisses par la fine couche cytoplasmique de la cellule de Schwann ; dans certains cas le côté faisant face à la cellule musculaire lisse est dépourvu de cytoplasme et n'est séparé de cette dernière que par un étroit espace d'environ 20 millimicrons.

De nombreuses fibres nerveuses contiennent de petites vésicules de 15 à 60 millimicrons de diamètre ; quelquefois des vésicules, de taille moyenne, rondes ou ovoïdes, pouvant atteindre un diamètre de 150 millimicrons ; parfois de grosses vésicules jusqu'à 250 millimicrons de diamètre. La plupart de ces vésicules sont agranulaires, quelques-unes cependant contiennent des

granules de taille et de densité variables. Les vésicules granulaires se divisent en deux groupes.

Un premier groupe : ce sont des vésicules de taille moyenne (de 60 à 150 millimicrons de diamètre), remplies d'un matériel de densité variable.

Un deuxième grouoe : ce sont de petites vésicules (de 30 à 60 millimicrons de diamètre), contenant un granule dense, soit attaché à la membrane de la vésicule, soit libre dans cette dernière

D'autre part, certaines fibres nerveuses contiennent des neurotubules, légèrement incurvés, de 25 millimicrons ; certains se bifurquent ; leur diamètre est généralement régulier, mais certains présentent parfois des dilatations irrégulières, reliées par un étroit espace; est-ce un stade de formation des vésicules ? (D.G. SILVA)

Les cellules musculaires lisses

sont en étroit contact les unes avec les autres. Il existe trois types de "contacts cellulaires" (D.G SILVA).

Le premier type est le plus commun.
Les membranes plasmiques se faisant vis à vis sont séparées par un espace de 10 à 30 millimicrons contenant un matériel clair, au sein duquel existent souvent des structures filamenteuses à disposition oblique.

Dans le deuxième type,
Les membranes plasmiques semblent être en contact direct.

Le troisième type est le moins fréquent
Il s'agit de ponts intercellulaires avec continuité cellulaire entre les cellules adjacentes.

En examinant les relations entre les vaisseaux sanguins et les fibres nerveuses : la plupart d'entre elles possèdent des vésicules agranulaires et granulaires, ainsi que des neurotubules

## D. LE VAGIN

Organe de copulation chez la femelle, présentant comme tous les autres constituants du tractus génital de la ratte, des modifications morphologiques caractéristiques lors des différentes phases du cycle.

Nous verrons tout d'abord la structure histologique du vagin en microscopie optique et en microscopie électronique, puis quelles sont les variations morphologiques qui se produisent au cours du cycle oestral ; enfin, les aspects des frottis vaginaux durant les différentes phases du cycle.

### I - HISTOLOGIE

#### 1/ Structure en microscopie optique

La paroi du vagin est constituée d'un épithelium de revêtement reposant sur un chorion, conjonctivo-vasculaire et d'une musculeuse, dont les faisceaux adoptent une orientation surtout longitudinale.

L'Epithelium est pluristratifié, hératinisé ; il dérive de l'épithélium mullérien, cylindrique (M. BENJAMARK et J.G. FORSBERG.1959) qui se transforme en épithelium pluristratifié, cette transformation se faisant par métaplasie.

Le tissu conjonctif sous-jacent, chez l'animal immature (E. BURACK - J.M. WOLFE - W. LANSING et A.W. WRIGHT.1941) est habituellement constitué d'un réseau de fibres de collagène, étroitement entrelacées, au sein duquel se trouvent de très nombreux fibroblastes, à gros noyau vésiculeux. L'animal vieillissant, les fibres de collagène deviennent plus denses. En certaines régions les fibres de collagène ont tendance à se grouper en grossiers amas, notamment au niveau de la paroi antérieure du vagin près de l'urètre ; en d'autres régions au contraire, le tissu conjonctif est très lâche, formant parfois

des flaques presque hyalines. Ainsi chez le même animal, le tissu conjonctif situé près de l'urètre est habituellement assez grossier ; celui qui est présent dans les culs de sac est au contraire finement fibrillaire.

2/ Modifications au cours du cycle oestral

L'épaisseur de l'épithélium varie de façon considérable, au cours des phases du cycle oestral. Ainsi ;

Le maximum d'épaisseur est atteint lors du proestrus (Stade I) de 8 à 14 couches cellulaires en moyenne. Durant l'oestrus l'épithelium a une épaisseur plus réduite, de 7 à 11 couches collulaires au stade II, et de 5 à 8 couches au stade III. L'épaisseur de l'épithélium vaginal atteint en valeur minimale lors du metroestrus (stade IV), de 4 à 6 couches cellulaires. Puis les couches vont ensuite graduellement augmenter au cours du dioestrus (stade V) : de 4 à 7 couches cellulaires au début du dioestrus, et 8 à 9 couches cellulaires à la finde ce stade, pour atteindre leur nombre maximum pendant le proestrus (R. VOKAER.1950 ; Z.JAWORSKI. 1951 ; F.D. BERTALANFFY et C. LAU.1963).

Durant le proestrus, les éléments cellulaires de l'épithélium vaginal se répartissent de la façon suivante :

Assise basale :

Elle est en général constituée de 2 à 3 couches cellulaires. Ce sont des cellules cubiques ou cubo-cylindriques, dont les noyaux sont petits, ovalaires, assez sombres.

Assise intermédiaire :

A la partie profonde les cellules sont grosses, polyedriques, à noyaux centraux, vésiculeux, nucléolés, à chromatine fine ; on distingue 2 à 3 couches cellulaires.

Puis les éléments cellulaires deviennent plus aplatis, le noyau devenant ovalaire (3 couches environ). La partie la plus superficielle de cette assise, est constituée de cellules aplaties à cytoplasme très éosinophile, presque vitreux, dont les noyaux sont aplatis, denses, pycnotiques ; ces éléments se répartissent en 2 à 3 couches.

Assise superficielle :

Constituant la couche mucoïde. Les cellules sont polyedriques, leur cytoplasme est très clair ; les noyaux sont ovalaires, très clairs ; on distingue en général 2 à 3 couches cellulaires.

La couche mucoïde commence à se dissocier, ou parfois totalement dissociée, laissant à nu les éléments les plus superficiels de l'Assise intermédiaire. La desquamation des éléments les plus superficiels commence à la fin du proestrus. Parfois la couche mucoïde superficielle est encore visible au début de l'oestrus (H.E. STEGNER et M.J. IWATA 1967).

Au début de l'oestrus la desquamation des cellules va se poursuivre, l'épithelium vaginal étant constitué :

- d'une assise basale :
formée de 2 à 3 couches cellulaires. Les cellules sont cubiques ou cubo cylindriques ; les noyaux sont ovalaires, sombres, la chromatine est répartie en mottes.

- d'une assise intermédiaire :
formée de 6 couches cellulaires. Ce sont de grosses cellules polyédriques, s'aplatissant vers la surface ; les noyaux sont vésiculeux, à chromatine fine, nucléolés, ayant tendance à s'aplatir et à devenir ovalaires dans les zones les plus superficielles. On peut distinguer dans la zone la plus

superficielle, 2 couches cellulaires ; ce sont des cellules très plates, à cytoplasme granuleux, plus éosinophile que les précédentes, à noyaux, petits, ovalaires, nucléolés, à membrane nucléaire nette.

- d'une assise superficielle :
Il s'agit de lamelles cornées.

Cette desquamation se poursuit, pour en arriver à une exposition graduelle des couches cellulaires intermédiaires, à la fin de l'oestrus et lors du metroestrus. La conséquence de cette desquamation est la suivante : l'épaisseur de l'épithélium vaginal devient minimale lors du metroestrus, et fait important, il se produit à ce stade une infiltration discrète de polynucléaires de l'épithelium.

Au cours du dioestrus :
L'épaisseur de l'épithelium augmente du début à la fin de ce stade. L'infiltration de l'épithelium, par les polynucléaires, est très importante et maximum au début du dioestrus, diminuant ensuite progressivement, pour devenir nulle à la fin de ce stade. A la fin du dioestrus apparaissent des cellules superficielles disposées en une à deux couches, plus ou moins polyédriques, à cytoplasme clair, et ce noyau, gros, très clair ; une prolifération cellulaire plus intense, permet d'accroître, l'épaisseur de l'épithelium jusqu'à 14 couches cellulaires durant le proestrus ; la maturation cellulaire qui se produit lors de ce stade, entraine la formation de cellules superficielles plus grandes, cornées, disposées en plusieurs couches à la surface de l'épithelium.

Des changements se produisent également à la partie basale de l'épithelium ; ceci est principalement mis en évidence par le nombre de couches cellulaires parabasales présentes durant les phases du cycle. Durant le proestrus, l'on

peut observer jusqu'à 5 couches cellulaires parabasales, alors que lors du metoestrus on ne distingue plus qu'une seule couche parabasale (F.D. BERTALANFFY et C. LAU.1963).

La grande majorité des divisions cellulaires, s'observe dans la couche basale durant toutes les phases du cycle oestral. 70 % à 90 % des mitoses se produisent dans la couche la plus basse, cependant l'épaisseur de l'épithelium entre en ligne de compte en effet lorsque l'épithelium est très épais, donc durant le proestrus, on peut observer des mitoses jusqu'à la cinquième couche parabasale. Donc les cellules les plus actives sont les cellules basales, même si quelques cellules parabasales contribuent au renouvellement cellulaire.

Certaines des cellules filles demeurent des cellules basales (afin de pourvoir à la naissance de nouvelles générations cellulaires) ; d'autres au contraire vont se différencier et migrer, cette migration se faisant de façon irrégulière. Les cellules intermédiaires, hautement différenciées, et les cellules superficielles, cornées, n'entrent jamais en division.

- Valeur de l'activité mitotique
  et ses variations au cours du cycle

En 1963, F.D. BERTALANFFY et C. LAU, étudient les variations de l'activité mitotique au cours des différentes phases du cycle (ces auteurs ont utilisé la méthode à la colchicine), en établissant une moyenne sur une période de six heures, pour chaque stade. Il existe des fluctuations diurnes de l'activité mitotique au cours du cycle et cette dernière présente sa valeur la plus basse, durant le proestrus, la plus élevée durant la première phase de l'oestrus (stade II), puis cette valeur diminue et demeure presque constante durant le metoestrus et le dioestrus.

Durant un cycle oestral 114 % des éléments cellulaires de l'épithelium vaginal sont néoformés (voir tableau

ci-dessous). Ladurée de renouvellement de l'épithelium vaginal est d'environ quatre jours. Il se produit ainsi, un renouvellement complet de l'épithelium vaginal durant chaque cycle oestral.

Pourcentage des cellules nouvellement formées durant un cycle (Tiré de F.D. BERTALANFFY et C. LAU.1963)

| Stades | Longueur moyenne de chaque stade en heures | Taux mitotique en % % de chaque stade |
|---|---|---|
| Proestrus | 14,9 % | 7,8 |
| Oestrus I | 18,0 | 35,6 |
| Oestrus II | 12,7 | 17,5 |
| Metoestrus | 13,3 | 11,6 |
| Doestrus I | 24,0 | 18,5 |
| Dioestrus II | 24,5 | 23,0 |
| TOTAL | 107,4 | 114,0 |

En 1966, J.D. THRASHER - F.I. CLARK & D.R. CLARKE étudiant le renouvellement de l'épithelium vaginal de la souris, durant le cycle oestral, en utilisant la méthode à la thymidine tritiée, arrivent à des résultats comparables. Le pourcentage de cellules marquées, le plus bas, se voit au cours de la première phase du dioestrus (dioestrus I) ; le pourcentage le plus important durant le proestrus et l'oestrus. Cependant F. LEROY - P. GALAND et J. CHRETIEN dans un travail plus récent (1969) montrent que l'activité mitotique maximale se produit durant la deuxième moitié du dioestrus et durant le proestrus, en donnant à une heure d'intervalle deux injections intrapéritonéales de thymidine tritiée, l'une à basse concentration, l'autre à forte concentration ; on distingue 2 sortes de cellules marquées : celles dont le noyau est faiblement marqué et celles dontle noyau est fortement marqué. La durée de la phase de synthèse du D.N.A. ou S. phase étant donnéepar la formule suivante :

$$Ts = \frac{\text{Nombre de noyaux faiblement marqués}}{\text{Nombre de noyaux fortement marqués}} \quad T$$

N.B. : T = intervalle entre les deux injections. Cette étude a été faite sur 300 cellules environ.

Si des rattes sont traitées par de la Progestérone, il se produit, en moins d'une semaine, une cessation du cycle oestral. L'épithelium vaginal est réduit à 6 couches cellulaires et ne présente pas sa maturation habituelle. Un traitement continu par la progestérone entraine après deux à trois semaines, une transformation mucoïde de l'épithelium vaginal; celui-ci étant réduit à 4 couches cellulaires. Cependant s'y produisent des fluctuations diurnes de l'activité mitotique. Le pourcentage des cellules nouvellement formées, calculé sur une période de 24 heures, est d'après F.D. BERTALANFFY, de 14,8 %. De plus, étant donné que les variations cycliques ne se produisent plus chez ces rattes, on peut à partir de l'activité mitotique calculée sur 24 heures, estimer que le "Turn Over" de l'épithelium vaginal est peu différent de 7 jours.

Ceci est en accord avec la double potentialité de l'épithelium vaginal, c'est à dire l'évolution, soit vers la mucification, soit vers la kératinisation. Chez la souris la stratification et la kératinisation sont le résultat de la stimulation par les oestrogènes, la desquamation et la mucification résultant de l'influence de la progestérone : ce phénomène est très accentué chez la souris. De toute façon ce qui est à peu près certain est que le taux de division cellulaire dépend des variations du taux des oestrogènes. Les oestrogènes ont un effet positif sur la croissance de l'épithelium, la progestérone exerçant l'effet inverse. Ceci expliquerait le fait que pour F. LEROY, P. GALAND et J. CHRETIEN, le taux de division cellulaire décroisse lors du proestrus,

alors que la secrétion des oestrogènes est à son plus haut niveau, la secrétion de progestérone commençant à ce stade, et ayant une action inhibitrice sur le taux de division cellulaire. La prolifération cellulaire, durant le proestrus, étant considérée comme résultant d'actions opposées des oestrogènes et de la progestérone (F. LEROY - P.GALAND et J. CHRETIEN 1969).

3/ Structure en microscopie électronique

L'aspect en microscopie électronique de l'épithelium vaginal de la ratte, au cours des différentes phases du cycle oestral (H.E. STEGNER et M. IWATA.1967), se présente de la façon suivante :

a) lors de l'oestrus

L'épithelium vaginal comporte
- une couche basale et parabasale
- une couche spongieuse inférieure et supérieure
- une couche cornée

( au début de l'oestrus la couche mucoïde superficielle peut être visible, cependant elle présente la plupart du temps une dissociation etun décollement).

Les cellules de la couche basale, sont très solidement attachées, par des ramifications qui s'enfoncent dans la lamina propria. Une membrane basale, épaisse de 30 millimicrons, s'étend parallèlement aux membranes cellulaires des cellules basales à une distance de 30 millimicrons. Les espaces intercellulaires, sont larges et traversés ou reliés par de fins prolongements cytoplasmiques. Les cellules sont reliées entre elles par des desmosomes qui sont très abondants au cours de l'oestrus.

Les noyaux sont ovalaires.

Le cytoplasme comporte un reticulum endoplasmique granulaire bien développé, des ribosomes libres, de grandes mitochondries, ovales ou allongées, pourvues de crêtes. S'y trouvent également des faisceaux denses de tonofibrilles, entourant les noyaux ou disposés irrégulièrement en "boucles de cheveux" ; ils s'étendent jusqu'aux fines [illegible] fixées dans la lamina propria.

Au niveau des couches parabasale et spongieuse inférieure, les cellules ont une structure moins dense. Elles sont reliées entre elles par des desmosomes plus longs et plus nombreux.

Les desmosomes sont constitués de segments épaissis de membranes cellulaires de cellules voisines, disposés parallèlement, pouvant avoir de 0,1 à 0,5 millimicrons de long et limitant un espace interdesmosomal de 20 millimicrons. Au niveau des points de contact, la membrane cellulaire, très osmiophile, a une épaisseur de 10 millimicrons ; puis vient une zone plus claire du cytoplasme large de 5 à 7 millimicrons ; enfin une zone plus fortement osmiophile comportant des tonofibrilles à disposition rayonnante. Entre les membranes cellulaires épaissies, au niveau de l'espace intercellulaire, on trouve trois bandes opaques aux électrons; deux s'étendent parallèlement aux membranes cellulaires des cellules correspondantes à une distance de 2,5 millimicrons, la troisième passant par l'axe de symétrie, soit à une distance de 10 millimicrons des membranes cellulaires des cellules voisines.

Les espaces intercellulaires sont larges ; les ramifications cytoplasmiques, qui se terminent soit librement dans l'espace, soit entrent en contact avec des ramifications voisines, sont plus épaisses.

Dans le cytoplasme, les mitochondries sont ovales, pourvues de crêtes ; les vésicules du réticulum endoplasmique sont peu nombreuses ; les faisceaux de tonofibrilles sont séparés en fibres, et disposés irrégulièrement, sauf au niveau des desmosomes où ils adoptent une disposition rayonnante.

Au niveau de la couche spongieuse supérieure, puis ensuite au début de la couche cornée, l'orientation des tonofibrilles devient de plus en plus transversale ; les mitochondries présentent des signes de dégénérescence : gonflement dégénérescence des crêtes ; il n'y a plus d'Appareil de Golgi. Les cellules s'aplatissent de plus en plus et une substance granuleuse opaque aux électrons, s'accumule dans les espaces intercellulaires, qui sont plus étroits. Le nombre des desmosomes et leur taille diminuent.

b) Lors du metoestrus

L'édifice cellulaire est beaucoup moins important ; en effet les couches cellulaires sont moins nombreuses; il se produit un appauvrissement en organites et une invasion de l'épithelium par des leucocytes. Les cellules de la zone intermédiaire ne sont reliées que par de fins prolongements cytoplasmiques, et les surfaces d'adhérence sont très petites ; les espaces inter-cellulaires sont sinueux. Les tonofibrilles sont très fines. Il y a donc un relâchement général des contacts entre les cellules, ce qui à la suite de la réduction et de la dégénérescence des desmosomes, une dissociation complète des éléments cellulaires. Les organites cytoplasmiques sont également réduits, notamment l'orgastoplasme et l'Appareil de Golgi, mais aussi les ribosomes libres et les mitochondries. Après leur migration les leucocytes, se trouvent étroitement entourés par les cellules épithéliales voisines, mais il ne se forme pas toutefois de liaison desmosomale.

c) Lors du dioestrus

Durant le dioestrus, de moins à son début, l'épithelium vaginal comporte 4 à 6 couches cellulaires;au-dessus des couches basale et parabasale, constituées chacune d'une assise cellulaire, se trouvent une couche spongieuse inférieure et supérieure, et une couche mucoïde superficielle.

La structure des cellules basales est peu différente de celle observée lors de l'oestrus. Cependant elles sont moins étroitement reliées les unes aux autres ; en effet les liaisons desmosomales sont moins nettes. Le cytoplasme comporte un reticulum endoplasmique granulaire bien développé, de nombreus ribosomes libres et des tonofibrilles bien formées, assemblées en faisceaux, se prolongeant dans les ramifications des cellules basales.

Les cellules du stratum parabasal et de la couche spongieuse se ressemblent beaucoup ; les espaces intercellulaires sont larges.

Les cellules de la couche spongieuse supérieure, apparaissent très sombres ; leur cytoplasme est particulièrement dense ceci étant dû à la multiplication des organites. En effet le reticulum endoplasmique granulaire est très développé, les ribosomes libres trèc richement répartis, l'Appareil de Golgi est de très grande taille et il existe de nombreuses mitochondries. Les espaces inter-cellulaires sont larges, contenant des prolongements cytoplasmiques fins.

Dans le cytoplasme de ces cellules apparaissent des vésicules, atteignant le diamètre de 1 millimicron, remplies d'une substance granuleuse, blanchâtre; elles sont limitées par une membrane simple, généralement lisse. Ces vésicules de mucine sont d'abord disposées au voisinage de l'Appareil de Golgi ; en augmentant de volume, elles se rejoignent et les membranes dégénérent alors en fines cloisons. Dans la zone superficielle, le cytoplasme est pratiquement entièrement occupé par les grosses vésicules de mucine

ou par des vésicules du reticulum endoplasmique vides ; entre celles-ci se trouvent des mitochondries en dégénérescence, et un Appareil de Golgi de petite taille en état de régression. Par suite de la dégénérescence des desmosomes, la couche mucoïde se dissocie finalement notamment lors du proestrus tardif. La mucine peut se former à partir des lamelles ergastoplasmiques, l'ergastoplasme pouvant être également responsable de la synthèse des mucopolysaccharides.

Ainsi, durant le cycle oestral il se produit une modification périodique, de la différenciation cellulaire, combinée à un renouvellement cellulaire régénérateur, à partir de cellules de la zone basale, qui ne varient que peu au cours du cycle.

Chez l'animal immature, le tissu conjonctif est habituellement constitué d'un réseau de fibres de collagène, étroitement entrelaçcées, contenant en son sein un nombre considérable de fibroblastes, à gros noyaux vésiculeux. L'animal vieillissant, le tissu conjonctif devient plus dense. Ce qui différencie le jeune vagin du vieux vagin, est le nombre et la nature des fibroblastes : chez le jeune, les cellules sont abondantes, formées d'un gros noyau vésiculeux ; chez le vieux, les éléments cellulaires sont relativement peu nombreux par rapport à la proportion des fibres et apparaissent aplatis et rétractés. Cependant de grandes variations sont possibles entre les deux extrêmes.

## II - FROTTIS VAGINAUX

En 1917 STOCKARD et PAPANICOLAOU eurent l'idée d'étudier les frottis vaginaux, chez le cobaye, pour déterminer la durée du cycle oestral, en utilisant les degrés de maturation cellulaire, durant les principales phases du cycle. Il est ainsi possible d'après les frottis vaginaux de se rendre compte de l'activité de l'ovaire de l'animal.

En utilisant la coloration à l'hématoxyline de Harris Shorr S.3 (coloration de Shorr : hématoxyline de Harris-colorant S.3 de Shorr) après fixation à l'alcool-ether en parties égales, durant au moins cinq minutes, les éléments cellulaires apparaissent colorés de la façon suivante :

-les noyaux en violet
-le protoplasme des cellules éosinophiles varie du rouge brique au rose pâle violacé
- le protoplasme des cellules basophiles varie du bleu au vert clair

Dans le protoplasme des cellules éosinophiles, les granulations sont colorées en rouge.

Dans le protoplasme des cellules basophiles, les granulations sont noires ou bleues

- les leucocytes et le mucus sont colorés en vert.

1/ Classification des cellules

C.G. HARTMAN en 1944 a donné une classification d'ailleurs assez complexe, des cellules observées sur des frottis vaginaux de la ratte (coloration trichromique de Hartman).

a) Cellules du type I ou "Scales"

Elles sont colorées en rouge (vermillon) brillant, il n'y a pas de noyau, elles sont claires et dépourvues de granulations, excepté certains stades transitionnels.

b) Cellules du type II (ou cellules de Shorr)

Le cytoplasme est abondant ; sa coloration varie du bleu au gris. Le noyau est arrondi, vésiculeux, ou légèrement elliptique, avec une chromatine condensée en petits granules.

c) Cellules de type III (cellules basophiles)

Ce sont des cellules basophiles pourvues de granulations basophiles dans leur cytoplasme. Elles se rapportent à deux sortes principales, apparaissant à des époques différentes

du cycle.

La première sorte ou cellules de Shorr; elles possèdent de nombreuses granulations basophiles dans leur cytoplasme, de taille variable ; parfois le cytoplasme et les granulations peuvent prendre une coloration rouge ; ces cellules sont originaires de la couche granuleuse de LONG-EVANS.

Beaucoup plus tard apparaît le deuxième type : ce sont des cellules vertes, pourvues de granulations basophiles, éparpillées dans le cytoplasme ; une des premières à apparaître lors du proestrus après la disparition des leucocytes.

d) Cellules de type IV (cellules muqueuses)

Ce sont des cellules épithéliales, un peu différentes, elles apparaissent habituellement au troisième jour du cycle ; au début elles présentent de nombreuses vacuoles éparpillées dans le cytoplasme.

e) Cellules de type V ("phagocytozed cells")

Ce sont habituellement des cellules épithéliales, de taille moyenne, colorées en pourpre, pouvant contenir un ou plusieurs leucocytes, contemporaines des cellules muqueuses.

f) Cellules du type VI, autres cellules épithéliales

C.G. HARTMAN les divise en six classes :

- Cellules épithéliales, Classe I

Ce sont des cellules rares, colorées en rouge pourpre, apparaissant lors du précoce metoestrus et habituellement en compagnie de leucocytes ;

- cellules épithéliales, classe II (cellules "deep")

Ce sont des cellules dégénératives, pourvues de noyaux pycnotiques, au début certaines sont de coloration rouge pourpre, mais au quatrième jour les cellules légèrement vertes sont prédominantes

- cellules épithéliales, Classe III ("Red Epithelial cells")

Elles prennent la coloration rouge, de même que les cellules kératinisées, mais elles peuvent être normalement présentes le jour précédant l'oestrus. Le cytoplasme est dense, finement granuleux, coloré en rouge.

- Cellules épithéliales, Classe IV (cellules épithéliales de LONG-EVANS)

Visibles lors du proestrus ce sont de grandes cellules, la coloration du cytoplasme varie du vert au gris ; elles sont différentes des cellules de Shorr en ce que la chromatine du noyau est distribuée de façon uniforme (noyaux gris).

- Cellules épithéliales, Classe V ("Late basophile cells")

On peut les voir sur les frottis, précédant le plein oestrus, apparition de cellules dont le cytoplasme est coloré en gris, possédant des granulations basophiles, éparpillées.

- Cellules épithéliales, Classe VI

C'est un autre type de cellules en dégénérescence, provenant probablement du col. Elles sont colorées en gris pâle, le noyau est sombre, presque pycnotique ; le cytoplasme est souvent vacuolisé, au quatrième jour du cycle.

2/ Aspects des frottis vaginaux durant les phases du cycle.

De nombreux auteurs se sont attachés à leur description, notamment R. VOKAER (1950), surtout Z. JAWORSKI (1950), A.M. MANDL (1951), F.D. BRETALANFFY et C. LAU (1963). Pour établir les différents stades, dans l'évolution d'un cycle et éventuellement l'intensité de la stimulation lors d'un cycle artificiel, les critères suivants (Z. JAWORSKI) sont utilisés :

Degré de croissance : desquamation plus ou moins intense

Différenciation vers la mucification ou la kératinisation
Indice eosinophilique et de dégénérescence nucléaire
Infiltration leucotytaire
Présence de mucus sur le frottis

a) Lors du proestrus (stade I)

Il se produit une desquamation des cellules superficielles. Au début, les cellules sont égales, en dimension, forme et aspect. Elles sont arrondies, leur volume moyen est de 16 à 18 microns. Le cytoplasme est bleuâtre, homogène, transparent ; les limites cellulaires sont nettes. Les noyaux sont homogènes, gros, faisant 10 microns, la chromatine y est fine ; ils possèdent un à deux nucléoles. Les cellules binuclées sont fréquentes. Parfois l'on peut voir des cellules en assez grand nombre, possédant dans leur cytoplasme des vacuoles volumineuses, enfonçant le noyau. Dans certaines cellules, le cytoplasme comporte de rares et fines granulations. Le frottis est propre ne contenant pas de leucocytes.

Au tout début du proestrus, il n'y a pratiquement pas de pycnose ni de Caryorrhexis et les cellules éosinophiles sont inexistantes. Puis au fur et à mesure que l'on progresse, les processus d'éosinophiles et de dégénérescence nucléaire vont se développer. L'on peut facilement apprécier ce processus à l'aide des indices éosinophiliques et de dégénérescence nucléaire ou caryopycnotique.

A la fin du proestrus pycnose et caryorrhexis atteignent 70 à 90 % de la totalité des éléments cellulaires; les noyaux des cellules restantes ont une membrane plissée, irrégulière. L'éosinophile évolue de façon parallèle à la dégénérescence nucléaire. Les cellules éosinophiles sont kératinisées, grandes (taille de 24 à 40 microns), le cytoplasme est de coloration rouge brillant, ne possédant pas de noyaux (on leur donne parfois le nom de squames). Selon Z. JAWORSKI (1950), il est possible suivant les valeurs des différents indices, de distinguer trois sous-phases au proestrus. Ainsi,

Le proestrus débutant I.E. : moins de 10 %
$I_nD_n$ (I.K.) : 0

Le proestrus moyen I.E. : plus ou moins 50 %
$I_nD$ I.K. : 40 à 50%

Le proestrus terminal I.E. : 70 % et plus
$I_nD_n$ (I.K.) : supérieur à 50 %

Indice éosinophilique : I.E.
Indice de dégénérescence nucléaire ou carryopycnotique : $I_nD_n$(IK)

b) Lors de l'oestrus (stade II et stade III)

Au début de ce stade, le frottis est uniquement constitué de squames, colorés en rouge brillant, disposés en placards. Les cellules isolées sont plicaturées à la fin de ce stade elles sont plus pâles, cytolytiques et mieux étalées. Au déclin de cette phase et avant l'apparition des leucocytes, on voit une réapparition des cellules de Shorr, ce sont de grandes cellules basophiles pouvant atteindre 15 à 30% des éléments du frottis.

c) Lors du Metoestrus (stade IV)

C'est à ce stade qu'apparaît l'infiltration leucocytaire. Tantôt la leucocytose précède la basophile, tantôt le phénomène inverse se produit (Z. JAWORSKI). En plein metoestrum, il persiste cependant un certain nombre de cellules eosinophiles (40 % de la totalité des cellules du frottis), mais à côté de ces squames, il existe ici des cellules eosinophiles nuclées de taille variable ; ce sont des cellules petites, d'environ 10 microns, colorées en rouge brique, à noyau punctiforme, bleu foncé ; des cellules naviculaires et des cellules moyennes et très grandes de 30 microns et plus, pourvues d'un noyau, pycnose ou caryorrhexis, contenant très souvent des granulations, cytoplasmiques rouge foncé.

Les cellules basophiles deviennent plus nombreuses et prédominantes ; il en existe plusieurs sortes : des cellules très grandes (cellules de Shorr) ; des cellules de taille moyenne ou naviculaires, à cytoplasme bleu-gris, opaque, ouateux, contenant un ou plusieurs noyaux, sombres, à structure fine, à contours irréguliers avec une encoche plus ou moins prononcée ; le cytoplasme de ces cellules subit un processus de vacuolisation lors du postmetroestrus et du dioestrus ; ces éléments proviennent des couches intermédiaires. Le passage au postmetoestrus est caractérisé par la disparition des cellules éosinophiles, le frottis devenant plus pauvre en éléments.

d) Lors du dioestrus (stade V)

Selon Z. JAWORSKI, ce stade peut être divisé en trois sous-phases :

- le dioestrus initial ou postmetoestrus
- le dioestrus vrai
- le dioestrus terminal.

- Le dioestrus initial (ou postmetoestrus).

La leucocytose est ici à son maximum ; il s'agit de granulocytes neutrophiles (le leucocyte de la ratte a une dimension de 7,5 microns). Les cellules vaginales sont peu nombreuses, basophiles et de dimensions différentes. Il en existe plusieurs types :

Des cellules de taille moyenne, de 14 à 16microns, allongés, naviculaires ; le cytoplasme est bleu-gris, opaque, à limites imprécises : les noyaux sont denses, sombres, mesurant 8 à 10 microns ; la membrane nucléaire est encochée et plicaturée.

Au fur et à mesure que l'on se rapproche du dioestrus vrai, les cellules basophiles se vacuolisent, devenant de plus en plus nombreuses, certaines d'entre elles prennent un aspect spongieux : les noyaux se condensant de plus en plus et se ratatinant.

Il existe également de grandes cellules mesurant de 28 à 40 microns, à cytoplasme gris clair, et à gros noyaux clairs, d'une taille de 10 à 14 microns, contenant souvent des granulations basophiles dans leur cytoplasme (cellules de Shorr selon C.G. HARTMAN) ; elles diminuent durant le metoestrus et le postmetoestrus.

Il existe également fréquemment des cellules basophiles phagocytaires, cellules de type V de HARTMAN. Enfin, l'on voit quelques cellules éosinophiles rose pâle, provenant probablement de la vulvaire (selon Z. JAWORSKI).

- Le dioestrus vrai

A ce moment se produit sur le frottis l'apparition de mucus. Le frottis est sale (Z. JAWORSKI), les éléments d'origine vaginale sont rares ; les leucocytes sont nombreux, disposés en tourbillons denses. Dans les filaments de mucus, on peut observer des cellules de petite taille, d'environ 10 microns ; leur cytoplasme est verdâtre, clair ; les noyaux sont denses, en croissant ou désintégrés ; ce sont probablement des cellules d'origine extra-vaginale provenant du cervix. Cette phase occupe la deuxième moitié du dioestrus.

- Le dioestrus terminal

Peut être considéré comme une phase intermédiaire entre le dioestrus et le proestrus. Cette phase est très fugace. Le frottis se clarifie, le mucus se raréfie, les leucocytes sont bien moins abondants et les éléments cellulaires deviennent plus nombreux, avec une légère poussée de cellules éosinophiles (STAPLES.RE et GEILS H.D.1965), ceci correspondant à la desquamation qui va aller en s'intensifiant.

Il existe donc, au niveau de l'épithelium vaginal, une double potentialité, c'est à dire une évolution, soit vers la mucification, soit vers la kératinisation. La dernière éventualité fait suite à la croissance de l'épithelium et à

sa différenciation, l'apogée de ce processus se produisant lors de l'oestrus. Par contre, la mucification n'est qu'à peine ébauchée lors du cycle normal, elle ne se manifeste que dans les conditions physiologiques de la gravidité.

.

# DEUXIEME PARTIE

## MISE EN EVIDENCE DE VARIATIONS CYCLIQUES DES LIPIDES VAGINAUX PAR LA CYTOLOGIE EXFOLIATRICE

Les cellules de l'organisme contiennent des lipides, c'est-à-dire des substances naturelles contenant dans leur molécule des acides gras ; ces lipides peuvent être, soit à l'état libre et mis ainsi facilement en évidence par des réactions histochimiques simples, soit liés à d'autres constituants chimiques et par conséquent masqués.

Les cellules vaginales ne font pas exception à cette règle.

En 1969, M. BIBBO, A. CAMARGO et V. VALERI mettent en évidence des variations des lipides des cellules vaginales de la femme au cours du cycle. Les triglycérides atteignent leur valeur maximale lors de la phase oestrogénique et diminuent pendant la phase progestéronique : les phospholipides et le cholestérol varient en sens inverse.

En 1972, M. MAILLET, Ph. ANTONIOZ et Cl. BOUTON, colorant des frottis vaginaux de femmes en période folliculique et folliculo-lutéinique par le Rouge Soudan III, mettent en évidence dans les cellules superficielles et intermédiaires des granulations soudanophiles dont le nombre, l'aspect et la répartition présentent des variations cycliques caractéristiques ; celles-ci sont si nettes et si constantes que ces auteurs les proposent comme pouvant servir de test à l'ovulation.

Nous nous proposons en effectuant quelques réactions histochimiques de mise en évidence des lipides, sur des frottis vaginaux de Rattes d'essayer de mettre en évidence d'éventuelles modifications cycliques des lipides dans les cellules vaginales aux différentes phases du cycle.

## I. MATERIEL ET METHODES

Des frottis vaginaux quotidiens sont effectués pendant six semaines sur des Rattes Albinos matures, pesant 230 grammes, âgées de 5 mois, plaçées à la température de 23°C, nourries à volonté et soumises à un éclairement naturel.

Ces frottis colorés par la méthode de Shorr nous permettent dans un premier temps de sélectionner des animaux à cycles réguliers de 4 jours ; dans un deuxième temps, sur des frottis des animaux ainsi sélectionnés, nous pratiquons les réactions histochimiques de mise en évidence des lipides suivantes :

1°. Technique à l'Oil Red O dissous dans l'Alcool Isopropylique
2°. Technique au Noir Soudan
3°. Réaction de Baker
4°. Méthode dite "OTAN" d'Adams (1959)
5°. Procédé d'Adams, Abdulla, Bayliss et Weller (1966)
6°. Méthode d'Ackermann pour Lipides masqués (1952).

Les Frottis sont préalablement fixés au Formol-Calcium de Baker (Eau distillée : 90 ml ; Formol à 40 %: 10 ml ; chlorure de Calcium : 1 g).

Notre travail porte sur 25 cycles, avec pour chacun une coloration histochimique plus une coloration morphologique de Shorr.

## II. TECHNIQUES

1°. Coloration par l'Oil Red O

Oil Red O dissous dansl'alcool isopropylique (Lillie et Ashburn.1943).

Les frottis sont fixés dans le Formol-Calcium de Baker et rincés à l'eau distillée.

- Plonger les lames dans l'alcool isopropylique à 60 % fraîchement préparé.

- Colorer par l'Oil Red O fraîchement filtré durant 10 minutes
- Différencier rapidement (30 secondes environ) dans l'alcool isopropylique à 60 % fraîchement préparé.
- Laver à l'eau.
- Coloration de fond par le vert lumière durant quelques minutes et laver à l'eau. On peut également colorer les noyaux par l'hématéine et ensuite laver à l'eau.
- Monter au sirop d'Apathy.

(Solution d'Oil Red O :

Solution mère :

Oil Red O..... 0,5 g

Alcool isopropylique à 98 %..... 100 ml

Solution de travail :

Diluer 6 ml de la solution mère dans 4 ml d'eau distillée. Bien remuer, attendre une heure au moins et 24 heures au plus avant usage. Filtrer juste avant l'emploi sur filtre Whatman n° 42).

Pour les résultats de cette technique, voir tableau I (Lipides hydrophobes en phase liquide : triglycérides insaturés, cholestérides insaturés, et acides gras libres insaturés ; colorés en rouge ; coloration modérée des cérébrosides, phospholipides très faiblement ou non colorés.

2°. Coloration par le Noir Soudan

Les Frottis sont fixés au Formol-Calcium de Baker et rinçés à l'eau distillée

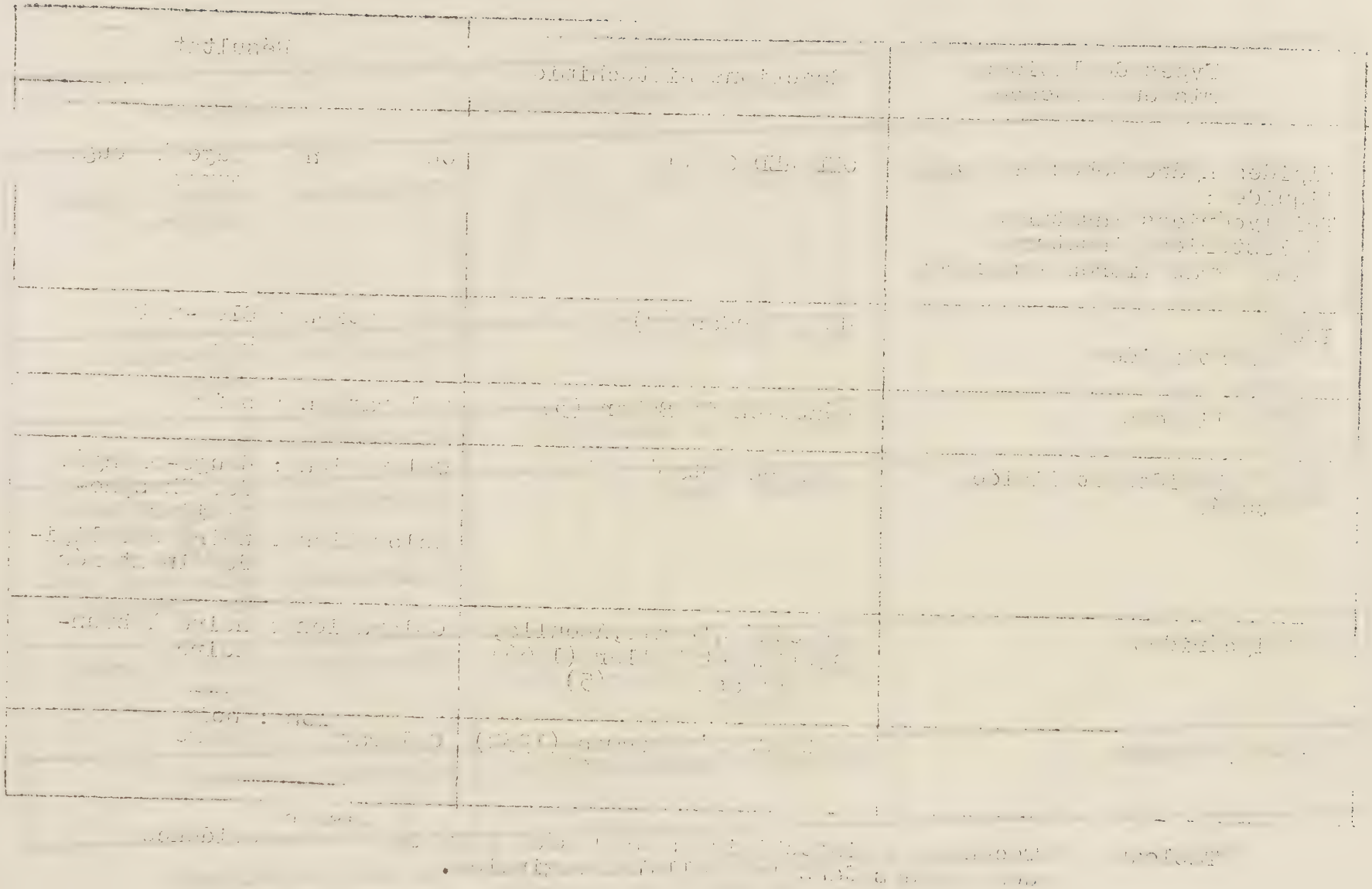
- Plonger les lames durant 1 minute dans l'éthanol à 70%
- Colorer avec la solution de Noir Soudan fraîchement filtrée durant 17 à 20 minutes
- Différencier dans l'ethanol à 70 % durant quelques minutes
- Laver à l'eau

Colorer les noyaux par le Rouge nucléaire

- Laver à l'eau
- Monter au sirop d'Apathy

| Types de lipides mis en évidence | Réactions histochimiques | Résultats |
|---|---|---|
| Lipides hydrophobes en phase liquide :<br>Triglycérides insaturés<br>Cholestérides insaturés<br>Acides gras libres insaturés | OIL RED O (1) | Coloration : Rouge à rouge pourpre |
| Idem<br>+ Phospholipides | Noir Soudan (2) | Coloration : Bleu-noir à noire |
| Phospholipides | Réaction de Baker (3) | Coloration : noire |
| Phospholipides et lipides insaturés | Méthode "Otan" (4) | Coloration : Rouge-orangée des Phospho-lipides<br>Coloration : noire des lipi-des insaturés |
| Triglycérides | Procédé d'Adams,Abdulla, Bayliss et Weller (1966) (Lipase) (5) | Coloration : noire à brun-noire |
| Lipides masqués | Méthode d'Ackerman (1952) (6) | Coloration : noire |

Tableau I : Techniques histochimiques utilisées pour la mise en évidence des lipides dans les cellules vaginales.



(Solution de Noir Soudan) :

Solution saturée de Noir Soudan dans l'éthanol à 70 %, environ 2 g pour 100 ml.)

Pour les résultats voir tableau I (Lipides en phase liquide : triglycérides insaturés, cholestérides insaturés, acides gras insaturés, glyoclipides et phospholipides colorés en Noir).

3°. Réaction de Baker

Les frottis sont fixés au Formol-Calcium de Baker et rinçés à l'eau.

- Transférer les lames dans le bichromate-calcium pendant 18 heures à la température du laboratoire
- Transférer dans un autre bain de bichromate-calcium à 60° durant 24 heures
- Laver à l'eau courante pendant 6 heures, puis à l'eau distillée
- Transférer dans le bichromate-calcium à 60° durant 1 heure
- Laver dans plusieurs bains distillés durant 5 minutes
- Transférer les lames dans une solution d'hématéine acide à 37° durant 5 heures
- Rincer à l'eau distillée
- Mettre dans le borax-ferricyanure à 37° durant 18 heures
- Laver à l'eau durant 10 minutes
- Monter au sirop d'Apathy.

Réactifs :

Bichromate-calcium :

| | |
|---|---|
| Bichromate de potassium..... | 5 g |
| Chlorure de calcium anhydre..... | 1 g |
| Eau distillée..... | 100 ml |

Hématéine acide

Dissoudre

| | |
|---|---|
| Hématoxyline..... | 0,5 g |
| Eau distillée..... | 48 ml |

Ajouter exactement 1 ml d'une solution à 1 % d'iodate de sodium Chauffer jusqu'à ébullition commençante. Refroidir, et ajouter

1 ml d'acide acétique glacial. Utiliser ce réactif le jour de sa préparation.

Borax ferricyanure

Ferricyanure de potassium..... 0,25 g
Tetraborate de dosium (10 $H_2O$)..... 0,25 g
Eau distillée..... 100 ml

Conserver ce réactif à l'obscurité et au froid.

Résultats : voir tableau I : phospholipides contenant de la choline colorés en noir.

4°. Méthode dite "OTAN" d'Adams (1959)

Méthode au tétroxyde d'osmium-alpha naphtylamine

Les frottis sont fixés dans le Formol-Calcium de Baker et rinçés à l'eau.

- Placer les lames dans le mélange tetroxyde d'osmium-chlorate de potassium durant 18 heures (le récipient doit être hermétiquement bouché)

- Laver à l'eau distillée durant 10 minutes
- Traiter par une solution aqueuse saturée d'alpha naphtylamine à 37° durant 15 minutes
- Laver à l'eau distillée durant 5 minutes
- Contre colorer dans une solution de Bleu Alcian à 2 % dans l'acide acétique à 5 % durant 30 à 45 secondes
- Laver à l'eau et monter au sirop d'Apathy.

Réactifs :

Tetroxyde d'Osmium-Chlorate de potassium

Solution aqueuse à 1 % de tetroxyde d'osmium... 10 ml
Solution aqueuse à 1 % de chlorate de potassium 10 ml

Alpha Naphtylamine

Solution saturée d'alpha naphtylamine dans l'eau distillée préalablement chauffée à 40°. Filtrer avant l'usage.

Résultats : voir tableau I : phospholipides colorés en rouge-orangé ; esters du cholestérol et triglycérides colorés en noir.

5°. Procédé d'Adams-Abdulla-Bayliss et Weller (1966)

Le principe en est une hydrolyse des triglycérides par une Lipase.

- Les frottis sont fixés au Formol-Calcium de Baker et rinçés à l'eau

- Afin d'éliminer les fausses réactions dues aux dépôts calc ques, on plonge préalablement les lames dans une solution aqueuse à 20 % d'Acide éthylène-diamine tétracétique (EDTA), de ph 6,9 durant 30 minutes.

- Plonger les lames dans une solution de Lipase durant 9 à 10 heures en moyenne.

- Bien laver à l'eau distillée.

- Plonger les lames dans une solution aqueuse à 1 % de nitrate de plomb durant 15 minutes

- Bien laver à l'eau distillée

- Plonger les lames dans une solution diluée de sulfure d'ammonium durant 1 minute

- Laver à l'eau distillée

- Colorer les noyaux par l'hématéine, laver à l'eau, passer dans le carbonate de lithium et laver à nouveau à l'eau.

- Monter au sirop d'Apathy.

(Solution de Lipase)

| | |
|---|---|
| Lipase d'origine pancréatique..... | 50 mg |
| - Sol aqueuse à 2 % de chlorure de calcium..... | 10 ml |
| - Tampon Tris 0,2 M pH 8,0..... | 15 ml |
| Eau distillée..... ..... | 25 ml |

Solution diluée de sulfure d'ammonium

| | |
|---|---|
| Sol à 20 % de sulfure d'ammonium..... | 1 ml |
| Eau distillée..... ..... | 60 ml |

(Résultats : triglycérides coloratich noire. Inconvénient de cette méthode : l'abondance du précipité rendant souvent l'interprétation difficile).

6°. Méthode d'Ackerman (1952) pour Lipides Masques

- les frottis sont fixés au Formol-calcium de Baker et lavés à l'eau

- Plonger les lames dans ne solution aqueuse à 25 % d'Acide Acétique durant deux minutes

- Laver vigoureusement à l'eau, puis à l'eau distillée. Laisser sécher les frottis.

- Colorer par une solution saturée de Noir Soudan dans l'éthanol à 70 %, vieille d'au moins une semaine, pendant 30 minutes

- Différencier dans l'éthanol à 70 %
- Sécher
- Monter au sirop d'Apathy.

Résultats : Lipides liés colorés en noir.

## III. RESULTATS

### 1°. Technique à l'oil Red O

Cette technique est facilement et rapidement réalisable. Elle permet de mettre en évidence un certain nombre de lipides, en particulier les triglycérides insaturés, les cholestérides insaturés et les acides gras libres insaturés ; en général, les phospholipides ne sont pas ou très peu colorés. Elle permet d'obtenir de belles préparations remarquablement contrastées, avec une grande constance.

Les lipides mis en évidence par cette technique sont visualisés, dans les cellules vaginales sous la forme de granulations intracytoplasmiques dont l'aspect et le nombre sont fort variables lors des phases du cycle.

Lors du proestrus

Il existe dans les cellules vaginales des granulations intracytoplasmiques colorées en rouge, présentant les caractéristiques suivantes :

- elles sont nombreuses, sphériques, réfringentes
- leur diamètre est irrégulier, petit ou grand
- elles sont également réparties dans le cytoplasme
- elles n'ont aucune tendance à la confluence.

Elles sont présentes dans environ 70 % des éléments du frottis, en particulier dans les cellules superficielles.

Lors de l'oestrus

Les granulations intracytoplasmiques présentent un aspect fort différent

- Elles sont très nombreuses, sphériques, réfringentes
- elles sont en outre très fines et de même diamètre
- leur répartition est homogène ; toutes les cellules sont véritablement "bourrées" de granulations
- elles sont en outre isolées, sans aucune tendance à la confluence.

Lors du métoestrus

Les granulations lipidiques intracytoplasmiques

- sont nettement moins nombreuses
- elles sont grossières, parfois déformées
- leur calibre est inégal
- leur répartition est non homogène ; elles ont tendance à confluer parfois en amas.

Lors du dioestrus

Les granulations intracytoplasmiques

- sont rares
- plus ou moins fines
- parfois inégalement réparties ; cependant elles n'ont aucune tendance à la confluence.

Le tableau ci-dessous résume lescaractéristiques de ces granulations lors des différentes phases du cycle :

| Technique Oil Red O | Stades du cycle | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Proestrus | Oestrus | Métoestrus | Dioestrus |
| Résultats : Nombre | ++ | +++ | + | - |
| Diamètre | Inégal Petit et grand non confluentes | Egal et fin Non confluentes | Inégal Petit et grand par confluence | Inégal |
| Répartition | Homogène | Homogène | Non-homogène | |

N.B. Code :

- \- : granulations rares
- \+ : granulations peu nombreuses
- \+ : granulations nombreuses
- +++ : granulations très nombreuses

2°. Technique au noir soudan

Cette technique, pourtant simple et facilement réalisable, donne souvent des résultats assez décevants. Son intérêt réside dans le fait qu'elle permet de mettre en évidence non seulement les triglycérides insaturés, les cholestérides insaturés et les acides gras insaturés, mais encore les phospholipides; les résultats sont assez superposables à ceux observés dans la technique à l'Oil Red O;

Lors du proestrus

Les cellules vaginales dont la proportion de une cellule sur dix présentent dans leur cytoplasme des granulations colorées en noir :

- elles sont assez nombreuses, sphériques
- leur calibre est inégal
- elles n'ont aucune tendance à la confluence.

Elles sont particulièrement bien visibles au niveau des squames.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| | | | | - |
| | | | | Inégal |
| | | | | |

Lors de l'oestrus

Les granulations intracytoplasmiques se présentent sous un aspect fort différent.

- Elles sont très nombreuses
- Elles sont en outre très fines, régulières, sphériques de calibre égal
- Elles n'ont aucune tendance à confluer.

Elles sont particulièrement bien visibles au niveau des squames.

Lors du met

Les granulations intracytoplasmiques sont

- moins nombreuses
- beaucoup plus grossières, parfois déformées
- elles confluent en amas plus ou moins réguliers,

les granulations sont visibles dans moins d'une cellule sur dix.

Lors du dioestrus

Les granulations sont beaucoup plus rares.

Leur taille est inégale, certaines sont souvent grosses ; elles n'ont pas cependant tendance à confluer.

On les retrouve dans la proportion de une cellule sur quinze environ.

Les caractéristiques de ces granulations lors des différentes phases du cycle, sont résumées dans le tableau ci-dessous :

| Technique Noir Soudan | Proestrus | Oestrus | Métoestrus | Dioestrus |
|---|---|---|---|---|
| Résultats : Nombre | ++ | +++ | + | - |
| Diamètre | Inégal petit et grand sans confluence | Egal et fin sans confluence | Inégal Petit et grand par confluence | Inégal |
| Répartition | Homogène | Homogène | Non homogène | |

3°. Réaction de Baker

Cette technique permet de mettre en évidence les phospholipides. Elle présente deux inconvénients : d'une part, c'est une technique longue à effectuer, d'autre part, ses résultats sont souvent inconstants. Elle colore sur les frottis les squames en noir de manière homogène.

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Lors de l'oestrus

les squames sont intensément colorés en noir.

Lors du métroestrus

en particulier au début de ce stade, il subsiste quelques squames colorés.

En Dioestrus, la réaction est pratiquement négative et durant le proestrusn réapparaissent petit à petit les squames colorés en noir, le maximum étant atteint en oestrus.

Cette réaction permet donc de suivre la desquamation des squames lors du cycle et les variations qu'elle indique sont celles que l'on observe morphologiquement sans coloration particulière.

4°. Méthode "OTAN"

Cette technique permet de mettre en évidence d'une part les phospholipides et, d'autre part, les lipides insaturés; triglycérides insaturés et cholestérides insaturés.

Les lipides insaturés apparaissent dans les cellules vaginales sous la forme de granulations intracytoplasmiques colorées en noir ; ces phospholipides donnent lieu à une coloration rouge-orangée, homogene, du cytoplasme.

Lors du proestrus

Les granulations noires intracytoplasmiques

- sont peu nombreuses
- leur calibre est volontiers inégal
- elles ne possèdent pas de tendance à la confluence

et elles sont régulières.

Lors de l'oestrus

Ces granulations présentent un aspect très différent

- elles sont nombreuses
- elles sont en outre très fines, sphériques, régulières,
- elles sont régulièrement réparties dans toutes les cellules
- elles ne confluent jamais.

- Lors du métoestrus

Les granulations sont noires intra cytoplasmiques

- sont moins nombreuses

- elles sont souvent grossières, irrégulières, de calibre inégal

- elles confluent parfois dans certaines cellules.

- Lors du dioestrus

- les granulations sont rares à ce stade

- elles sont de plus isolées, inégales entre elles

- elles ne présentent pas cependant de tendance nette à la confluence.

Le pourcentage des cellules dont le cytoplasme apparaît coloré en rouge-orangé, de manière homogène, varie lors des phases du cycle.

Ce pourcentage est très faible, voire nul en dioestrus ; il semble augmenter pendant le proestrus et devient net et maxima lors de l'oestrus, diminuant ensuite nettement pendant le Metroestrus, pour atteindre une valeur presque nulle lors du dioestrus suivant.

Les caractéristiques des granulations noires intracytoplasmiques, durant les phases du cycle, sont résumées dans le tableau ci-dessous:

| Technique "OTAN" | Stades du cycle | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Proestrus | Oestrus | Metoestrus | Dioestrus |
| Résultats : Nombre | ++ | +++ | + | - |
| Diamètre | Inégal Petit et grand Sans confluence | Egal et fin Sans confluence | Inégal Petit et grand par confluence | Inégal |
| Répartition | Homogène | Homogène | Non homogène | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

5°. Méthode à la Lipase

Cette dernière permet de mettre en évidence les triglycérides. Une précaution importante est à prendre avant de réaliser cette réaction. Les frottis fixés au formol-calcium de Baker doivent être préalablement plongés dans une solution d'EDTA à 30 % à ph 6,9 pendant 30 minutes, afin d'éliminer le calcium qui est susceptible de donner de fausses réactions positives.

Cette technique est d'une grande constance ; l'inconvénient majeur est l'abondance du précipité de sulfure de plomb qui surcharge les lames et rend par conséquent l'interprétation de ces dernières souvent délicates.

Les triglycérides apparaissent dans les cellules vaginales sous la forme de granulations intracytoplasmiques colorées en noir.

En Proestrus

La réaction est négative.

En Oestrus

Il existe des granulations noires, nombreuses, très fines, régulièrement réparties dans le cytoplasme, non confluentes.

En Métoestrus et en Dioestrus

La réaction est négative.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Les négations sont réunies dans le tableau suivant :

| la négation est négative. | De négation et en Discours |
|---|---|
| Il existe des grammaires noires, sombres, pales, | également négatives dans le discours, non (ne) pertes. |

| Technique : Lipase | Stades du cycle | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Proestrus | Oestrus | Metœstrus | Dioestrus |
| Résultats : Nombre | - | +++ | - | - |
| Diamètre | | Egal et petit Sans confluence | | |
| Répartition | | Homogène | | |

6°. Méthode d'Ackerman

Cette méthode permet de mettre en évidence les lipides liés. Un traitement par un acide permet le démasquage de ces lipides qui peuvent ensuite être colorés par un lysochrome tel le Noir Soudan. Ces substances se présentent dans les cellules sous la forme de granulations intracytoplasmiques et colorées en noir.

Lors du proestrus

On trouve dans les cellules vaginales, dans la proportion d'une cellule sur 8 à 10 environ, des granulations intracytoplasmiques

- peu nombreuses
- de calibre irrégulier, souvent grosses
- elles n'ont aucune tendance à confluer et souvent inégalement réparties.

- Lors de l'oestrus

Les granulations intra cytoplasmiques apparaissent dans la proportion de une cellule sur deux

- elles sont fines, très nombreuses, régulières,
- leur répartition est homogène
- elles n'ont aucune tendance à confluer.

Les squames sont colorés de façon homogène, en gris noir, ponctués de fines granulations noires.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Lors du Metoestrus

Les granulations intracytoplasmiques sont nettement moins nombreuses ; on les trouve dans la proportion d'une cellule sur trois ou quatre.

- elles sont grossières, de calibre inégal
- elles ont tendance à confluer.

Lors du Dioéstrus

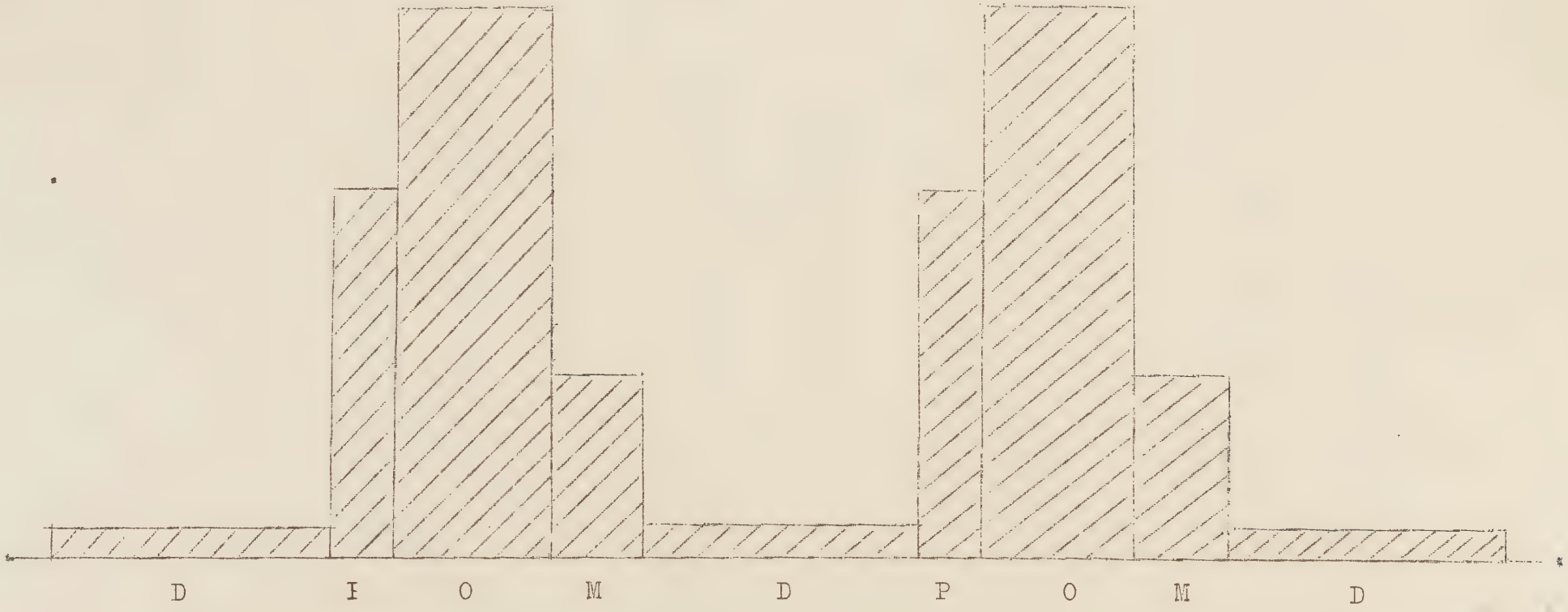
Les granulations intracytoplasmiques sont rares, de calibre inégal, souvent volumineuses ayant tendance parfois à confluer. La proportion des éléments cellulaires les contenant est d'environ d'une cellule sur dix.

Les caractéristiques de ces granulations lors des phases du cycle sont résumées dans le tableau ci-dessous :

| Technique "Ackerman" | Stades du cycle | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Proestrus | Oestrus | Métoestrus | Dioestrus |
| Résultats : Nombre | + | +++ | + | - |
| Diamètre | Inégal Petit et grand sans confluence | Egal et fin sans confluence | Inégal Petit et grand par confluence | Inégal |
| Répartition | Inhomogène | Homogène | Non homogène | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Diagramme illustrant les variations quantitatives des granulations lipidiques des cellules vaginales au cours du cycle




Remarque:
P:PROESTRUS;O:OESTRUS;M:METOESTRUS;D:DIOESTRUS

# CONCLUSION

Les différentes réactions histochimiques de mise en évidence des lipides que nous avons pratiquées, montrent des résultats très homogènes. Il existe de nettes variations cycliques, avec une augmentation importante des lipides sous toute leur forme au moment de l'oestrus, suivie d'une baisse rapide en métoestrus et en dioestrus, pour remonter au moment du proestrus.

Ces lipides se présentent avec nos techniques, dans les cellules vaginales, sous la forme de granulations intracytoplasmiques dont le nombre, la forme et la confluence ou non, varient avec un aspect très évocateur durant les différentes phases du cycle oestral.

Le tableau ci-dessous schématise l'évolution de ces granulations au cours du cycle :

| Granulations intra cytoplasmiques | Stades du cycle oestral | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Proestrus | Oestrus | Metoestrus | Dioestrus |
| Nombre | ++ | +++ | + | - |
| Diamètre | Inégal non confluentes | Petit non confluentes | Inégal par confluence | |
| Répartition | Homogène | Homogène | Non homogène | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

# BIBLIOGRAPHIE

1. ACKER G. - ALLOITEAU J.J.
Allongement du cycle cestral de la ratte par injection d'une quantité minime d'oestradiol le jour de l'oestrus.
C.R. Acad. Sci (Série : D). Paris, 1968, 266/1, (11-14)

2. ACKER G. - ALLOITEAU J.J.
Prolactine et régulation du cycle cestral chez la ratte.
C.R. Acad. Sci (Série : D). Paris, 1968, 266 (509-11)

3. ACKER G. - ALLOITEAU J.J.
Le tout jeune corps jaune cyclique de la ratte est-il fonctionnel sans soutien hypophysaire ?
C.R. Soc. Biol. Fr. 1968.1 (29-32)

4. ADHAM N. - SCHENK E.A.
Autonomic innervation of the rat vagina, cervix and uterus, and its cyclic variations.
Amer. J. Obstet. Gynec. 1969.104 (508-16)

5. ALDEN R.H.
The interstitial tissue of ovary in infantile and juvenile rat.
J. of Morpho. U.S.A. 1951,88 (543-71)

6. ALLEN E.
The oestrous cycle in the mouse.
Amer. J. of Anat. 1922.30 (297-31)

7. ALLEN W.M.
Cyclical alterations of the endometrium of the rat during the normal cycle, pseudopregnancy and pregnancy.
Anat. Rec. 1931.48 (65-104)

8. ALLOITEAU J.J. - ASCHEIM P.
Le cycle oestral de la ratte. Modifications expérimentales de sa durée, réflexions sur son déterminisme.
Rev. Europ. Endocrinol. Fr. 1967.4/ (41/54)

9. ARAI J.H.
On the postnatal development of the ovary (Albino Rat), with special reference to number of ova.
Amer. J. of Anat. 1920, 27 (405-62)

10. ARON M. - ARON Cl.
Atresie folliculaire, déterminisme et signification.
Archiv. Anat. Histo. Embryol. 1953. XXXVI.1 (3), (68-86)

11. ARON Cl. - ASCH G.
Déclenchement de la ponte ovulaire et de la luteinisation par le rapprochement sexuel chez les mammifères dits "à ponte spontanée".
C.R. Soc. Biol. 1961.155/11, (2173-76)

12. ARON Cl. - ASCH G.
Facteurs hormonaux de la ponte provoquée chez la ratte.
J. Physiol. (Paris). 1967.56 (277 : communication)

13. ARON Cl. - ASCH G. - ROOS J.
Données nouvelles sur l'action luteinisante ou ovulatoire de la stimulation mécanique du vagin et du col utérin chez la ratte.
C.R. Soc. Biol. 1968 (243-46)

14. ARON Cl. - LUXEMBOURGER M. - CHATEAU D.
Action de l'obscurité sur l'avènement de la maturité génitale et sur l'activité cyclique de l'ovaire chez la ratte.
Archiv. Anat. Histo. Embryol. Norm. Exp. Fr. 1968.51 (1/4), (31/40).

15. ARVY L.
Lymphologie et glandes endocrines : VI : La gonade (A : L'ovaire).
La Presse médicale. 1971, 79, n° 26 (1193-1200)

16. ASTWOOD E.B.
Changes in the weight and water content of the uterus of the normal adult rat.
Amer. J. of Physiol. 1939 (1939) 126, (162-70)

17. BACCARINI I.M.
Ultrastructural observations of the rat occyte during the oestrous cycle.
"In Twenty-sixth Ann Meetg, Electron Micr. Sc Amer. New-Orleans, La, 1968. Proc, Bâton Rouge, La, Claitor's Publishing Div. 1968-26.5 18, (158-59)

18. BASSET D.L.
The changes in vascular pattern of the ovary of the albino rat during the oestrous cycle.
Amer. J. of Anat. 1943, 73 (251-91)

19. BEAUMONT H.M. - MANDL. A.M.
A quantitative and cytological study of cogonia and occytes in the foetal and neonatal rat.
Proc. Soc. Roy. Biol. (London). 1962, 155, (556-79)

20. BELT W.
Fine structure of ovarian follicles
Anat. Rec.1962. 142 (214 : Abstr)

21. BENJMARK M. - FORSBERG J.G.
On the development of the rat vagina.
Acta. Anat. 1959.37 (106 et suiv.)

22 BERGMAN R.A.
Uterine smooth muscle fibers in castrate and oestrogen treated.
The J. of Cell Biol (U.S.A.) 1968. 36(3),(639-48)

23. BERTALANFFY F.D. - LAU C.
Mitotic rates, renewal times and cytodynamics of female genital epithelia in the rat.
Acta. Anat. 1963.54 (1-2), (39-81)

24. BIBBO M. - CAMARGO A. et VALERI V.
Studies of cell lipids from the human vaginal and cervical epithelimm during the menstrual cycle
Acta Cyro. 1969 (13 (5), (260-63).

25. BJORKMAN N.
A study of the ultrastructure of the granulosa cells of the rat ovary.
Acta. Anat. (Bâle). 1962-51 (125-47)

26. BLANDAU R.J. - RUMERY R.E.
Measurements of intrafollicular pressure in ovulatory and preovulatory follicles of the rat.
Fert. Steril. 1963. 14 (330-41)

27 BO W.J. - ODOR D.L. - ROTHROOK M.
The fine strudture of uterine smooth muscle of the rat uterus at various time intervals following a single injection of estrogen. Amer. J. Anat. 1968. 123/2 (369-84).

28. BOLING J.L. - BLANDAU R.J. è SODERWALL A.L. - YOUNG W.C.
Growth of the Graafian follicle and time of ovulation in the albino rat.
Anat. Rec. 1941. 79 (2), (313-27)

29. BURACK E. - WOLFE J.M. - LANSING W. - WRIGHT A.W.
The effect of age upon the connective tissue of uterus, cervix and vagina of the rat.
Cancer Res. 1941.1, (227-35)

30. BURKL W. - THIEL-BARTOSCH E.
Elektronenmikroskopische untersuchungen Uber die granulosa atresierender tertiar follikel bei der ratte.
Arch. Gynäk. 1967.204/4, (238-50).

31. CATSHPOLE H.R. - GERSH I. - PAN S.C.
Some properties of ovarian connective tissue in relation to parenchymatous changes.
J. Endocrin. 1 (G.B.) 1950,6 (277-81).

32. CAESAR - EDWARDS
Architecture and nerve supply of mammalian smooth muscle tissue.
J. Biophy. Biochem. Cytol. 1957.3 (867-78)

33. COHÈRE G. - BRECHENMACHER C. - MAYER G.
Variations des ultrastructures de la cellule lutéale chez la ratte au cours de la grossesse.
J. Micr. Fr. 1967-6 (n° 5), (657-70)

34. COTCHIN E. - ROE F.J.C. (Editors)
Pathology of laboratory rate and mice.
Blackwell scientific publications. Oxford and Edinburg 1967.

35. DAVIS J.S. - HALL
Polyovuly and anovular follicles in the wild rat.
Anat. Rec. 1950. 107/2 (178-92)

36. DAWSON A.B. - McCABE M.
The interstitial tissue of the ovary in infantile and juvenile rat.
J. of Morpho. U.S.A. 1951,88 (543-71)

37. DAWSON A.L.
The immediate source of the primary interstitial tissue f the ovary of infantile rat.
Anat. Rec. 1949.539 (Abstr.)

38. DAWSON A.B.
Histogenic interelationships of occytes and follicles cells : a possible explanation of the mode of origin of certain polyovular follicles in immature rat.
Anat. Rec. 1951.110 (181-97)

39. DEANE H.W.
Histochemical observations on the ovary and oviduct of the albino rat during the oestrous cycle.
Amer. J. of Anat. 1952,91 (363-414)

40. DENISON M.E. - ZARROW M.W.
Changes in oestrous cycle of rats during prolonged exposure to cold
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1955, 89 (632-34)

41. DONAYRE José
The oestrous cycle of rats at high altitude
J. Reprod. Fertil. 1969.18 (29-32)

42. ENDERS A.C.
Observations of the fine structure of lutein cells
J. Cell. Biol. 1968-12 (101-13)

43. Site of production of oestrogen in rat ovary as studied in microtransplants
Acta. Physiol. Scandin. 1959-47 (Suppl:163) (1-101)

44. ITZGERALD P.H.
Cytological identification of sex in somatic cells of the rat. Rattus Norvegious.
Exper. Cell. Res. 1961.25 (191-93)

45. FLERKO B. - HAJOS F. - SETALO Gy.
Electron microscopic observations on rats ovaries in different stages of development and steroïdogenes
Acta. Morpho. Acad. Sci. Hungaricae. 1967.15/2, (163-83)

46. FRANCHI L.L.
Electron microscopy of occyte-follicle cells relationships in the rat ovary.
J. Biophysic and Biochem Cytol. 1960,7 (397-98)

47. FRANCHI L.L. - MANDL A.M.
The ultrastructure of oogonia and occytes in the foetal and neonatal rats.
Proc. Roy. Soc. (Serie : B), 1962.157, (99-114)

48. FRIEDERICI H.
The early response of uterine capillaries to oestrogenis stimulation an electron microscope study.
Lab. Investig (U.S.A.). 1967, 17/3, (323-33)

49. FRIEDERICI H. - DECLOUX R.
The early response of immature rat myometrium to oestrogenic stimulation.
J. of Ultrastruc. Res. (U.S.A.). 1968. 22 (5/6) (402-12).

50. GANTER P. - JOLLES G.
Histochimie normale et pathologique.
Tome I. Ed : Gauthier Villars. Paris 1970.

51. GANTER P. - JOLLES G.
Histochimie normale et pathologique
Tome II (pages 1570-1608). Ed : Gauthiers Villars. Paris. 1970.

52. GREENE E.C.
Gross Anatomy in "the rat in Laboratory Investigation"
Ed. by FARRIS E. - GRIFFITH J.Q. (Jr). 1942

53. GREENE E.C.
Anatomy of the rat
Philadelphia. The American Philosophical Society. South Fith Street, Hafner Publishing Company, New-York and London. 1963.
Transactions of the American Philosophical Society Held at Philadelphia. For promoting useful knowledge. New Series, Vol. XXVII

54. HADEK R.
The structure of the mammalian egg.
Int. Rev. Cytology. 1956.18, (29-68).

55. HAMILTON C.E.
The cervix uteri of the rat.
Anat. Rec. 1947. 97/1. (47-62).

56. HARRISON R.J.
The structure of the ovary in "The OVARY"
Ed. by ZUCKERMAN S. Academic Press, New-York,
1962. Tome I, Ch. 2 (143-73)

57. HARTMAN C.G.
Some observations on the vaginal smear of the rat
The Yale J. of Biol. and Med. 1944.17 (99 et suiv.)

58. HEAPE W.
The sexual "season" of mammalsand the relation of
the "proestrum" to menstruation.
Quart. J. Mici Sci. 1900.44 (1-7)

59. HOFFMANN J.C.
Effects of light deprivation on the rat oestrous
cycle.
Neuroendocrinology. 1967.2 (1-10)

60. HOFFMANN J.C.
Effect of photoperiod on estrous cycle lenght in
the rat.
Endocrinology. 1968.83/6 (1355-57)

61. HOCK S.J. - HAFEZ E.S.E.
A comparative anatomical study of the mammalian
uterotubal junction.
J. Morpho. 1968. 125/2 (159-84).

62. HUNGERFORD D.A. - NOWELL P.C.
Sex chromosome polymorphism and the normal
karyotype in three stains of the laboratory
rats.
J. of Morphology. 1963.113 (275-77)

63. INGRAM D.L.
Atresia in "The Ovary"
Ed. by ZUCKERMAN. S. Academic Press, New-York,
1962. Tome I. Chp. IV (pages 247 et suiv.)

64. ISHII
Observations of the sexual cycle of the white rat.
Anat. Rec. 1922. Tome 23 (311 et suivantes)

65. JAWORSKI Z.
Aspects nucléaires et affinités tinctoriales
cytoplasmiques des frottis vaginaux chez la ratte.
Etude comparative du cycle normal, de la maturation
sexuelle et du cycle artificiel chez l'animal
castré.
Ann. Endocrinol. 1950.11 (361-88).

66. JOCHLE W.
Uber den Eniflub des Lichter auf Sexualent wiclun und sexual periodik bei Saügen.
Endokrinologie. 1956.33 (129-38)

67. KASPROW B.A.
A descriptive classification system for uteri of prepubertal rat.
The Physiologist. Washington 1969.12 (266 :Abstr.)

68. KELLOG.
The development of the periovarial sac in the white rat.
Anat. Rec. 1941.79/4 (453 et suiv.)

69. KENT H.A. (Jr)
Polyovular follicles and multinucleate ova. in the ovaries of young rats.
Anat. Rec. 1962. 142/1 (25-29)

70. KING R.J.B.
Luteal function in the immature rat
Anat. Rec. 1949.105 (559-63)

71. KRONE H.A. - RICKERS K.
Cyclus der uteruschleimhaut im elektronenmikroskopischen bild.
Beitr. Path.Anat.Allge.Patho.1967.135/4 (390-410)

72. KROHN P.L.
Factors influencing the number of occytes in the ovary.
Archiv. Anat.Micr.Morpho.Exp.1967.Tome 56, Suppl au n° 3-4 (151-59)

73. LANE Ch.E.
The follicular apparatus of the ovary of the immature rat and some factors which influence it.
Anat. Rec.1935.61/2 (141-53).

74. LANE Ch.E. - DAVIS Fr.
The ovary of adult rat I : changes in growth of the follicle and in volume and mitotic activity of the granulosa and theca interna during the oestrous cycle".
Anat. Rec.1939. 73/4 (429-441)

75. LATASTE F.
Transformation périodique de l'épithélium du vagin des rongeurs.
C.R. Soc. Biol. (Paris). 1892.44 (765).

76. LATTA J.B. - PEDERSON E.S.
The origin of ova and follicle cells from the germinal epithelium of the ovary of the albino rat as demonstrated by selective intra-vital staining with the indian ink.
Anat. Rec.1944.90/1 (23-36)

LEROY F. - GALAND P. - CHRETIEN J.
The mitogonic action of ovarian hormone in the uterine and the vaginal epithelium during the oestrous cycle in rat : radioautographic study.
J. Endocrinol. 1969.45 (441-47)

78. LEROY F. - MANAVIAN D.
Etude histophotométrique de la biosynthèse d'ADN dans l'endomètre du rongeur.
Ann. Endocrinol.Fr.1967.28/5 (699-705)

79. LEROY F. - MANAVIAN D.
Etude histophotométrique de l'endomètre : évolution au cours du cycle oestral de la teneur en ADN des noyaux de l'endomètre de la ratte.
Rev.Etud.Clin.et Biol.1967.12/8 -1810-15)

80. LEROY F. - MANAVIAN D.
Etude histophotométrique de l'endomètre : évolution de l'intensité de la réaction de Feulgen dans les noyaux du stroma après une injection unique de stéroïdes sexuels.
Rev. Etud.Clin & Biol.1969.14/1 (59-66)

81. LEVER J.D.
Remarks on the electron micorscopy of the rat lutein cells and comparison with earlier observations in the adrenal cortex.
Anat.Rec.1956.124 (111-118)

82. LIPNER H. - GROSS N.L.
Morphology of the membrana granulosa of the ovarian follicle.
Endocrinology.1968.82 (638-41)

83. LONG J.A. - EVANS H.M.
The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena .
Mem.Univ.Calif.1922.6 (1-148) (Univ.Calif.Press. Berkeley.Califor)

84. MAILLET A. - ANTONIOZ Ph et BOUTON Cl.
Los lipidos en el frotis vaginal e la mujer : su utilization posible coma teste e ovulation.
Acta Ginecologica 1972. Vol. XXIII, tome 1, (35-40)

85 MAILLET H. - ANTONIOZ Ph. et BOUTON Cl.
Les lipides dans les frottis vaginaux de la femme. Leur utilisation possible comme test d'ovulation.
Rev. Cytologie Clinique. Sous Presse.

86. MANDL A.M.
The phases of the oestrous cycle in the adult white rat.
J. Exp. Biol.1951,28 (576-84)

87. MANDL A.M. - SHELTON M.
A quantitative study of occytes in young and old nulliparous laboratory rats.
J. Endocrinol.1959.18 (444-50)

88. MANDL A.M. - ZUCKERMAN S.
The effect of destruction of the germinal epithelium on the number of occytes.
J. Endocrinol.1950,7 (103-11).

89. MANDL A.M. - ZUCKERMAN S.
The relation of age to number of occytes.
J. Endocrinol.1950,7 -190-93)

90. MARK J.S.T.
An electron microscopic study of uterine smooth muscle.
Anat. Rec.1956.125/3 (473-94)

91. MARTINEK J. - KRAUS R.
Differentiation of follicle cells in the rat.
Folia.Morpho.Tchecosl.1967.15/4 (396-99).

92. MAUDE - WILLIAMS
The vascular architecture of the rat uterus as influenced by oestrogen and progesterone.
Amer. J. of Anat. 1948.83 (247-307).

93. MOTTA P. - NESCI E. - TAKEVA Z.
Sulla fine struttura delle zone di contatto tra cellule follicolari ed occita nel corso dello sviluppo del follicolo ooforo nei miferi.
Bull.Soc.Ital.Biol.Sper.1970.46/5 (257-59).

94. MOTTA P. - NESCI E.
The "Call and Exner Bodies" of mammalian ovaries with reference to the problem of rosette formation
Archiv.Anat.Micr.morpho.Exp.1969.58/3 (283-90)

95. ODOR D.L.
Electron microscopic studies on ovarian occytes and unfertilized tubal ova in the rat
J.Bioph.Biochem.Cytol.1960.7 (567-74)

96. O'SHEA J.D.
An electron microscope study of smooth muscle, and its innervation, in the ovary of the rat.
J.of Anat.1970.106/1 (196)

97. O'SHEA J.D.
An ultrastructural study of smooth muscle-like cells in the theca externa of ovarian follicles in the rat.
Anat.Rec.1970.167 (127-40)

98. OSVALDO-DECIMA.L.
Smooth muscle in the ovary of the rat and monkey.
J.Ultrastruc.Res.U.S.A.1970.30/1-2 -218-37)

99. PEDERSON E.S.
Histogenesis of lutein (cells), tissue of albino rat.
Amer.J. of Anat.1951.88 (397 et suivantes)

100. PEDERSON E.S. - LATTA J.S.
Luteinization of theca interna cells in the ovaries of albino rat.
Anat. Rec.1947.97 (402 : Abstract).

101. PESSACQ T.P.
Morphologie des fibres et des terminaisons nerveuses de l'utérus de la ratte impubère ou gravide.
Archiv.Anat.Micr.Morpho.Exp.1967.56/2 (133-39)

102. RETTERER M. (de)
Sur la morphologie et l'évolution de l'epithelium du vagin chez les mammifères.
C.R. hebd.des Séances et Mémoires.Soc.Biol.Paris.
Séance du 26 mars 1892. Tome : 44 (101-07)

103. RETTERER M. (de)
Evolution de l'epithelium du vagin.
C.R. hebd. des Séances et Mémoires.Soc.Biol.Paris.
1892.Tome : 44 (566-568)?

104. ROCHOWIAK M.W.
The fine structure of the granulosa cells of the albino rat during oestrous cycle.
Anat. Rec.1967.157/2 (310 : Abstract).

105. ROHLICH P. - OLAH I.
Cross striated fibrils in the endothelium of rat myometrial arterioles.
J. Ultrastruc.Res.U.S.A.1967.18/5 (667-76)

106. ROSS R. - KLEBANOFF S.J.
Fine structural changes in uterine smooth muscle and fibroblasts in response to estrogen.
J.Cell.Biol.U.S.A.1967.32/1 (155-67)

107. RUBINSTEIN L.
Localizacion autorradiografica de la sintesis de proteinas in vitro en el ovario de la ratta prepuber.
Rev.Soc.Argent.Biol.1966.42 (112-16)

108. SATO S.
The electron microscope study of the fine structure of the ovary in normal mature rat.
Archiv.Histol.Jap.1965.26 (115-49)

109. SATO S. - KUROSUMI K.
Electron microscopic studies of the fine structure of rat lutein cells with special reference to the mitochondrial globules.
Gunna.Symp.Endocrinol.1965.2 (61-69)

110 SCHAUB M.C.
Changes of collagen in the aging and in the pregnant uterus of white rat.
Gerontologia.1965.10 (137-45)

111. SHELTON M.
A comparison of the population of oocytes in nulliparous and multiparous senile laboratory rats.
J.Endocrinol.1959.18 (451-55)

112. SILVA D.G.
The ultrastructure of the myometrium of the rat with special reference to innervation.
Anat.Rec.1967.158/1 (21-33)

113. SLATER D.W. - DORNFELD E.J.
Quantitative aspect of growth and occytes production in the early prepubertal rat ovary.
Amer.J.Anat.1945.76 (253-75)

114. SMITH E.M. - CALHOUN M.L.
The microscopic anatomy of the white rat.
A photographic atlas.
The Iowa, State Univ. Press.Amer.Iowa, 1968.

115. SOTELO J.R.
An electron mucroscope study on the cytoplasm and nuclear components of rat primary occytes.
Zeitschrift für Zellforschung.1959.50 (749-65).

116. SOTELO J.R. - PORTER K.R.
An electron microscope study of the rat ovum.
J. of Biophysic and Biochemical cytology.1959.5 (327-42)

117. STAPLES R.E. - GEILS H.D.
An observation on the vaginal smear of the rat.
J.Endocrinol. (G.B.).1965.32 (263-64).

118. STEGNER H.E. - IWATA M.
Elektronenmikroskopische untersuchungen am shceidenepithel der ratte während das oestrischen zyklus.
Zeitschrift.für Mikroskopische Anatomische Forschung.1967.76 (491-508)

119. STOCKARD C.R. - PAPANICOLAOU G.N.
The existence of a typical oestrous cycle in the guinea-pig, with a study of its histological changes.
Amer. J.of Anat.1917.22 (225-83)

120. TACHI S. - TACHI C. et LINDNER H.R.
Cilia-bearing stronal cells in the rat uterus.
J. of Anat.1969. 104/2 (295-308)

121. TAKACS I.
Collagen content of ovary and testis of rats during ageing.
Gerontologia.1968.14 (174-79)

122. THRASHER J.D. - CLARK F. - CLARK D.R.
Changes in the vaginal epithelial cell cycle in relation to events of the oestrous cycle.
Experimental.Cell.Res.1966.45 (232-36).

123. TRUJILLO-CENOZ O. - SOTELO J.R.
Relationship of the ovular surface with follicles cells and origin of the zona pellucida.
J.Bioph.Biochem.Cytol.1959.5 (347-50)

124. TUOHIMAA P. - NIEMI M.
Cell renewal in the ovarian follicle of the rat during the oestrous cycle and presistent oestrous.
Acta.Endocrinologica.1969.62 (306-14).

125. UYTTENBROECK F.
A study of animal ovary (some comparisons with the human ovary).
Acta.Zoologica et Pathlogica.Antverpiensia.
1967.42 (1-110)

126. VAZQUEZ-NIN G.H. - SOTELO J.R.
Electron microscope study of the atretics occytes of the rat.
Z. Zellforsch.1967.80/4 (518-33)

127. WATERMAN A.J.
A laboratory mammal of comparativ e vertebrate embryology.
Henry-Holt and Co.New-York.1948 (71-79)

128. WEAKLEY B.S.
Comparison of cytoplasmic lamellae and membranous elements in the occytes of five mammalian species.
Z. Zellforsch.Mikrosk.Anat.1968.85/1 (109-23)

129. YAMAMOTO
An electron microscopics studies on development of uterine smooth muscle.
J. of Electron Microscopy.1961.10/3 (145-51)

130. YOUNG W.C. - BOLING J.L. - BLANDAU R.J.
The vaginal smear picture sexual receptivity and time of ovulation in the albino rat.
Anat. Rec.1941.80/1 (37-45).